



(12) **BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11) 
1-0020956

(51)⁷ **A01N 43/90, A61K 31/519**

(13) **B**

(21) 1-2012-01348

(22) 15.10.2010

(86) PCT/US2010/052808 15.10.2010

(87) WO2011/047238 21.04.2011

(30) 61/252,213 16.10.2009 US

(45) 27.05.2019 374

(43) 27.08.2012 293

(73) NOVARTIS AG (CH)

Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel, Switzerland

(72) DUMBLE, Melissa (AU), KUMAR, Rakesh (US), LAQUERRE, Sylvie (US),
LEBOWITZ, Peter (US)

(74) Công ty TNHH Ban Ca (BANCA)

(54) **HỖN HỢP ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH UNG THƯ CHỨA CHẤT ỨC CHẾ MEK VÀ
CHẤT ỨC CHẾ B-RAF VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỖN HỢP NÀY**

(57) Sáng chế đề cập đến hỗn hợp chứa chất ức chế MEK N-{3-[3-cyclopropyl-5-(2-fluoro-4-iodo-phenylamino)6,8-dimethyl;-2,4,7-trioxo-3,4,6,7-tetrahydro-2H-pyrido[4, 3-d]pyrimidin-1-yl]phenyl}acetamid, hoặc muối được dụng hoặc sovat của nó, với chất ức chế B-Raf, cụ thể là N-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimethyletyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-fluorophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamid hoặc muối được dụng của nó được phẩm chứa hỗn hợp này. Dược phẩm này được sử dụng để điều trị các tình trạng bệnh trong đó sự ức chế MEK và/hoặc B-Raf gây ra, chẳng hạn như bệnh ung thư.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hỗn hợp chứa chất ức chế MEK N-{3-[3-xyclopropyl-5-(2-flo-4-iodo-phenylamino)6,8-dimetyl;-2,4,7-trioxo-3,4,6,7-tetrahydro-2H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-1-yl]phenyl}axetamit, hoặc muối được dụng hoặc sovat của nó, với chất ức chế B-Raf, cụ thể là N-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimetyletyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamit hoặc muối được dụng của nó, được phẩm chứa hỗn hợp này và phương pháp sử dụng các hỗn hợp này và các chế phẩm để điều trị các tình trạng bệnh trong đó sự ức chế MEK và/hoặc B-Raf là hữu ích, ví dụ bệnh ung thư.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Điều trị hiệu quả các rối loạn tăng sinh bao gồm bệnh ung thư là mục tiêu liên tục trong lĩnh vực ung thư học. Nhìn chung, bệnh ung thư là do sự mất điều hòa của các quá trình bình thường mà kiểm soát phân chia tế bào, sự biệt hóa và sự chết tế bào theo chương trình và được đặc trưng bởi sự tăng sinh của các tế bào ác tính mà có tiềm năng sinh trưởng không giới hạn, sự lan rộng tại chỗ và sự di căn trên toàn cơ thể. Sự mất điều hòa các quá trình bình thường bao gồm các sự bất thường trong các con đường truyền tín hiệu và đáp ứng với các yếu tố khác với các yếu tố tìm thấy trong các tế bào bình thường.

Họ các enzym lớn, quan trọng là họ enzym protein kinaza. Hiện nay, có khoảng 500 protein kinaza khác nhau đã biết. Các protein kinaza hoạt động xúc tác sự phosphoryl hóa chuỗi bên của axit amin trong nhiều protein khác nhau bằng cách chuyển γ -phosphat của phức hệ ATP-Mg²⁺ đến chuỗi bên của axit amin này. Các enzym này kiểm soát phần lớn các quá trình phát tín hiệu bên trong các tế bào, nhờ đó chi phối chức năng, sự sinh trưởng, sự biệt hóa và sự phá hủy của tế bào (sự chết tế bào theo chương trình) thông qua sự phosphoryl hóa thuận nghịch các nhóm hydroxyl của gốc serin, threonin và tyrosin trong protein. Các nghiên cứu đã cho thấy rằng các

protein kinaza là các chất điều hòa chính của nhiều chức năng tế bào, bao gồm sự truyền tín hiệu, sự điều hòa phiên mã, sự di động của tế bào, và sự phân chia tế bào. Một vài gen ung thư cũng đã cho thấy mã hóa các protein kinaza, điều này gợi ý rằng các kinaza đóng vai trò quan trọng trong quá trình tạo khối u. Các quá trình này được điều hòa cao, thường bằng các con đường kết hợp phức tạp liên đới với nhau trong đó mỗi kinaza sẽ tự được điều hòa bởi một hoặc nhiều kinaza. Hậu quả là, hoạt tính của protein kinaza bất thường hoặc không thích hợp có thể góp phần làm phát sinh các tình trạng bệnh liên quan đến hoạt tính kinaza bất thường này bao gồm các rối loạn tăng sinh lành tính và ác tính cũng như các bệnh do sự hoạt hóa không thích hợp hệ miễn dịch và thần kinh. Do sự liên quan về sinh lý của chúng, như sự đa dạng và phân bố mặt khắp nơi, các protein kinaza đã trở thành một trong số họ gồm các enzym được nghiên cứu rộng rãi và quan trọng nhất trong nghiên cứu hóa sinh và y học.

Họ protein kinaza gồm các enzym thường được phân loại thành hai dưới họ chính: Protein Tyrosin Kinaza và Protein Serin/Threonin Kinaza, dựa trên gốc axit amin mà chúng phosphoryl hóa. Các protein serin/threonin kinaza (Protein Serin/Threonin Kinase-PSTK), bao gồm các protein kinaza phụ thuộc AMP vòng và GMP vòng, protein kinaza phụ thuộc canxi và phospholipit, các protein kinaza phụ thuộc canxi- và calmodulin, các casein kinaza, protein kinaza của chu kỳ phân chia tế bào và các protein kinaza khác. Các kinaza này thường là trong bào chất hoặc kết hợp với các phân đoạn nhỏ của tế bào, có thể bởi các protein mỏ neo. Hoạt tính protein serin/threonin kinaza khác thường có liên quan đến hoặc bị nghi ngờ trong một số bệnh lý như bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh vẩy nến, sốt nhiễm khuẩn, mất xương, nhiều bệnh ung thư và các bệnh tăng sinh khác. Do đó, các serin/threonin kinaza và các con đường truyền tín hiệu mà chúng là một phần của các đích quan trọng để thiết kế được chất. Các tyrosin kinaza phosphoryl hóa các gốc tyrosin. Các tyrosin kinaza đóng vai trò quan trọng tương đương nhau trong điều hòa tế bào. Các kinaza này bao gồm một vài thụ thể cho các phân tử như các yếu tố sinh trưởng và hormon, bao gồm thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì, thụ thể insulin, thụ thể yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu và yếu tố khác. Các nghiên cứu đã cho thấy rằng nhiều tyrosin kinaza là các protein xuyên màng có các miền thụ thể của chúng nằm bên ngoài tế bào và các miền kinaza của chúng nằm ở bên trong. Nhiều nghiên cứu cũng đang được tiến hành để xác định các tác nhân điều biến của các tyrosin kinaza.

Các thụ thể tyrosin kinaza (Receptor Tyrosin Kinase-RTK) xúc tác sự phosphoryl hóa các gốc axit amin tyrosyl nhất định trong các protein khác nhau, bao gồm chính nó, trong đó các protein này chi phối sự sinh trưởng, tăng sinh và biệt hóa tế bào.

Theo hướng xuôi chiều truyền tín hiệu một vài RTK nằm trong một vài con đường truyền tín hiệu, trong số đó là con đường Ras-Raf-MEK-ERK kinaza. Hiện nay, sự hoạt hóa các protein Ras GTPaza được cho là để đáp ứng các yếu tố sinh trưởng, các hormon, các xytokin, kích thích sự phosphoryl hóa và hoạt hóa các Raf kinaza. Các kinaza này sau đó phosphoryl hóa và hoạt hóa các protein kinaza nội bào MEK1 và MEK2, mà tiếp sau đó MEK1 và MEK2 phosphoryl hóa và hoạt hóa các protein kinaza khác, ERK1 và 2. Con đường truyền tín hiệu này, cũng được biết là con đường protein kinaza hoạt hóa bởi chất gây giảm phân (Mitogen-Activated Protein Kinase-MAPK) hoặc chuỗi bào chất, làm trung gian cho các đáp ứng tế bào đối với các tín hiệu sinh trưởng. Chức năng cuối cùng của con đường tín hiệu này là để liên kết hoạt tính thụ thể ở màng tế bào với sự thay đổi của các đích ở bào chất hoặc ở nhân mà chi phối sự tăng sinh, biệt hóa và sống sót của tế bào.

Sự hoạt hóa cơ định con đường này là đủ để cảm ứng sự biến đổi tế bào. Sự hoạt hóa mất điều hòa con đường MAP kinaza do sự hoạt hóa bất thường thụ thể tyrosin kinaza, các đột biến Ras hoặc các đột biến Raf đã được tìm thấy thường xuyên ở các bệnh ung thư ở người, và là yếu tố chính xác định sự điều khiển sinh trưởng bất thường. Trong số các khối u ác tính ở người, các đột biến ở Ras là phổ biến, đã được xác định ở khoảng 30% bệnh ung thư. Họ Ras gồm các protein GTPaza (các protein chuyển hóa guanosin triphosphat thành guanosin diphosphat) đóng vai trò chuyển tiếp các tín hiệu từ các thụ thể yếu tố sinh trưởng đã được hoạt hóa đến các thành phần nội bào xuôi chiều truyền tín hiệu. Nổi bật trong số các đích được tập hợp bởi Ras liên kết màng tế bào hoạt động là họ th Raf của các serin/threonin protein kinaza. Họ Raf bao gồm ba kinaza liên quan (A-, B- và C-Raf), chúng hoạt động như là các chất gây hiệu ứng xuôi chiều truyền tín hiệu của Ras. Tiếp theo đó, sự hoạt hóa Raf qua trung gian Ras gây ra sự hoạt hóa MEK1 và MEK2 (MAP / ERK kinaza 1 và 2) mà sau đó phosphoryl hóa ERK1 và ERK2 (kinaza 1 và 2 điều hòa tín hiệu ngoại bào) trên tyrosin-185 và threonin-183. ERK1 và ERK2 đã được hoạt hóa chuyển vị trí và tích lũy trong nhân, ở đó chúng có thể phosphoryl hóa nhiều cơ chất, bao gồm các yếu tố

phiên mã điều khiển sự sinh trưởng và sống sót của tế bào. Người ta đã biết tới tầm quan trọng của con đường Ras /Raf / MEK / ERK trong sự phát triển của các bệnh ung thư ở người, các thành phần kinaza của chuỗi tín hiệu đang sáp nhập là các đích quan trọng tiềm năng để điều biến sự tiến triển bệnh ung thư và các bệnh tăng sinh khác.

MEK1 và MEK2 là các thành viên của họ lớn hơn gồm các kinaza đặc hiệu kép (MEK1-7) mà phosphoryl hóa các gốc threonin và tyrosin của các MAP kinaza khác nhau. MEK1 và MEK2 được mã hóa bởi các gen riêng biệt, nhưng chúng có sự tương đồng cao (80%) cả trong các miền kinaza xúc tác ở đầu C và hầu hết các vùng điều hòa ở đầu N. Các dạng tạo u của MEK1 và MEK2 đã không được tìm thấy ở các bệnh ung thư người, nhưng sự hoạt hóa cơ định MEK đã được cho thấy gây ra sự biến đổi tế bào. Ngoài Raf, MEK có thể cũng được hoạt hóa bởi oncogeneza khác. Cho đến bây giờ, các cơ chất duy nhất đã biết của MEK1 và MEK2 là ERK1 và ERK2. Tính đặc hiệu cơ chất bất thường này cùng với khả năng duy nhất để phosphoryl hóa cả hai gốc tyrosin và threonin đặt MEK1 và MEK2 ở điểm then chốt trong chuỗi tín hiệu cho phép nó kết hợp với nhiều tín hiệu ngoại bào vào trong con đường MAPK.

Do đó, người ta đã nhận thấy rằng chất ức chế protein của con đường MAPK kinaza (ví dụ, MEK) nên có cả hai tác dụng là chất chống tăng sinh, tiền gây chết tế bào theo chương trình và chống xâm lấn để sử dụng trong ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh tăng sinh hoặc bệnh xâm lấn.

Hơn nữa, người ta cũng biết rằng hợp chất có hoạt tính ức chế MEK cảm ứng hiệu quả sự ức chế hoạt tính ERK1/2 và kìm hãm sự tăng sinh tế bào (The Journal of Biological Chemistry, vol. 276, No. 4 pp. 2686-2692, 2001), và hợp chất này được mong đợi là cho thấy hiệu quả đối với các bệnh gây ra bởi sự tăng sinh tế bào không mong muốn, như sự tạo khối u và/hoặc bệnh ung thư.

Các sự đột biến ở nhiều Ras GTPaza khác nhau và B-Raf kinaza đã được xác định có thể dẫn đến hoạt hóa kéo dài và cơ định của con đường MAPK, cuối cùng dẫn đến gia tăng sự phân chia và sống sót của tế bào. Kết quả của quá trình này, các đột biến này đã có liên quan chặt chẽ với sự thiết lập, phát triển, và tiến triển của nhiều loại bệnh ung thư người. Vai trò sinh học của Raf kinaza, và cụ thể là vai trò của B-Raf, trong sự truyền tín hiệu được mô tả trong Davies, H., *et al.*, *Nature* (2002) 9:1-6; Garnett, M.J. & Marais, R., *Cancer Cell* (2004) 6:313-319; Zebisch, A. & Troppmair,

J., *Cell. Mol. Life Sci.* (2006) 63:1314-1330; Midgley, R.S. & Kerr, D.J., *Crit. Rev. Onc/Hematol.* (2002) 44:109-120; Smith, R.A., *et al.*, *Curr. Top. Med. Chem.* (2006) 6:1071-1089; và Downward, J., *Nat. Rev. Cancer* (2003) 3:11-22.

Các sự đột biến xảy ra trong tự nhiên B-Raf kinaza mà hoạt hóa con đường truyền tín hiệu MAPK đã được tìm thấy với phần trăm lớn các u hắc sắc tố người (Davies (2002) *supra*) và các bệnh ung thư tuyến giáp (Cohen *et al.*, *J. Nat. Cancer Inst.* (2003) 95(8) 625-627 và Kimura *et al.*, *Cancer Res.* (2003) 63(7) 1454-1457), cũng như với tần suất thấp hơn, nhưng vẫn đáng kể trong các bệnh ung thư sau:

Ung thư tuyến Barret (Garnett *et al.*, *Cancer Cell* (2004) 6 313-319 và Sommerer *et al.*, *Oncogene* (2004) 23(2) 554-558), ung thư tuyến dải túi mật (Zebisch *et al.*, *Cell. Mol. Life Sci.* (2006) 63 1314-1330), bệnh ung thư vú (Davies (2002) *supra*), ung thư cổ (Moreno-Bueno *et al.*, *Clin. Cancer Res.* (2006) 12(12) 3865-3866), ung thư tuyến mật (Tannapfel *et al.*, *Gut* (2003) 52(5) 706-712), các khối u hệ thần kinh trung ương bao gồm các khối u CNS nguyên phát như u nguyên bào đệm, u tế bào hình sao và u tế bào màng (Knobbe *et al.*, *Acta Neuropathol. (Berl.)* (2004) 108(6) 467-470, Davies (2002) *supra*, và Garnett *et al.*, *Cancer Cell* (2004) *supra*) và các khối u CNS nguyên phát (nghĩa là, các sự di căn đến hệ thần kinh trung ương của các khối u có nguồn gốc bên ngoài hệ thần kinh trung ương), bệnh ung thư ruột kết-trực tràng, bao gồm ung thư tuyến ruột già (Yuen *et al.*, *Cancer Res.* (2002) 62(22) 6451-6455, Davies (2002) *supra* và Zebisch *et al.*, *Cell. Mol. Life Sci.* (2006), ung thư dạ dày (Lee *et al.*, *Oncogene* (2003) 22(44) 6942-6945), ung thư tuyến đầu và cổ bao gồm ung thư tuyến đầu và cổ tế bào vảy (Cohen *et al.*, *J. Nat. Cancer Inst.* (2003) 95(8) 625-627 và Weber *et al.*, *Oncogene* (2003) 22(30) 4757-4759), các bệnh ung thư máu bao gồm ung thư bạch cầu (Garnett *et al.*, *Cancer Cell* (2004) *supra*, cụ thể là ung thư bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính (Garnett *et al.*, *Cancer Cell* (2004) *supra* và Gustafsson *et al.*, *Leukemia* (2005) 19(2) 310-312), bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính (acute myelogenous leukemia-AML) (Lee *et al.*, *Leukemia* (2004) 18(1) 170-172, và Christiansen *et al.*, *Leukemia* (2005) 19(12) 2232-2240), các hội chứng loạn sản tủy (Christiansen *et al.*, *Leukemia* (2005) *supra*) và ung thư bạch cầu tủy bào mạn tính (Mizuchi *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2005) 326(3) 645-651); u bạch huyết Hodgkin (Figl *et al.*, *Arch. Dermatol.* (2007) 143(4) 495-499), u bạch huyết không phải Hodgkin (Lee *et al.*, *Br. J. Cancer* (2003) 89(10) 1958-1960), ung thư bạch

huyết nguyên bào nhân khổng lồ (Eychene *et al.*, *Oncogene* (1995) 10(6) 1159-1165) và chứng đau tủy (Ng *et al.*, *Br. J. Haematol.* (2003) 123(4) 637-645), u biểu mô tế bào gan (Garnett *et al.*, *Cancer Cell* (2004), ung thư phổi (Brose *et al.*, *Cancer Res.* (2002) 62(23) 6997-7000, Cohen *et al.*, *J. Nat. Cancer Inst.* (2003) *supra* và Davies (2002) *supra*), bao gồm ung thư phổi tế bào nhỏ (Pardo *et al.*, *EMBO J.* (2006) 25(13) 3078-3088) và ung thư phổi tế bào không nhỏ (Davies (2002) *supra*), ung thư buồng trứng (Russell & McCluggage *J. Pathol.* (2004) 203(2) 617-619 và Davies (2002) *supr*), ung thư áo niêm mạc tử cung (Garnett *et al.*, *Cancer Cell* (2004) *supra*, và Moreno-Bueno *et al.*, *Clin. Cancer Res.* (2006) *supra*), ung thư tụy (Ishimura *et al.*, *Cancer Lett.* (2003) 199(2) 169-173), u tuyến yên (De Martino *et al.*, *J. Endocrinol. Invest.* (2007) 30(1) RC1-3), ung thư tuyến tiền liệt (Cho *et al.*, *Int. J. Cancer* (2006) 119(8) 1858-1862), ung thư thận (Nagy *et al.*, *Int. J. Cancer* (2003) 106(6) 980-981), u liên kết ác tính (Davies (2002) *supra*), và ung thư da (Rodriguez-Viciana *et al.*, *Science* (2006) 311(5765) 1287-1290 và Davies (2002) *supra*). Biểu hiện quá mức c-Raf là có liên quan đến AML (Zebisch *et al.*, *Cancer Res.* (2006) 66(7) 3401-3408, và Zebisch (*Cell. Mol. Life Sci.* (2006)) và bệnh tăng sinh nguyên hồng cầu-nguyên tủy bào (Zebisch *et al.*, *Cell. Mol. Life Sci.* (2006).

Vì vai trò của họ Raf kinaza trong các bệnh ung thư này và các nghiên cứu thăm dò với nhiều loại dược chất và chất tiền lâm sàng, bao gồm chất có đích chọn lọc để ức chế hoạt tính B-Raf kinaza (King A.J., *et al.*, (2006) *Cancer Res.* 66:11100-11105), các chất ức chế thường được chấp nhận là một hoặc nhiều họ Raf kinaza sẽ là hữu ích để điều trị các bệnh ung thư này hoặc các tình trạng bệnh khác liên quan đến Raf kinaza.

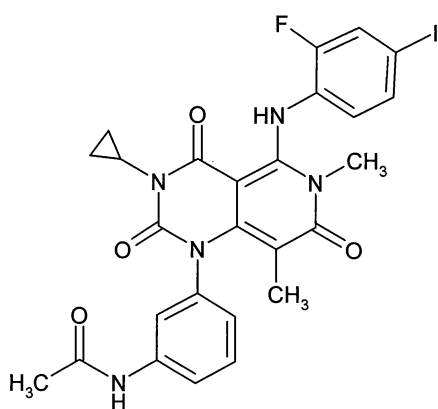
Đột biến B-Raf cũng có liên quan trong các tình trạng bệnh khác, bao gồm hội chứng tim-mặt da (Rodriguez-Viciana *et al.*, *Science* (2006) 311(5765) 1287-1290) và bệnh thận đa u nang (Nagao *et al.*, *Kidney Int.* (2003) 63(2) 427-437).

Mặc dù gần đây có nhiều thành tựu trong điều trị bệnh ung thư bằng các hợp chất như các chất ức chế MEK và B-Raf, vẫn tồn tại nhu cầu về cách điều trị hiệu quả hơn và/hoặc tăng cường của người bệnh bị bệnh ung thư.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

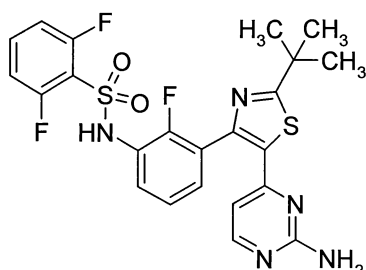
Các tác giả sáng chế đã xác định hỗn hợp các chất hóa trị liệu mà tạo nên hoạt tính cao so với liệu pháp đơn. Cụ thể là, hỗn hợp được chất bao gồm chất ức chế MEK *N*-{3-[3-xyclpropyl-5-(2-flo-4-iodo-phenylamino)6,8-dimetyl-2,4,7-trioxo-3,4,6,7-tetrahydro-2H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-1-yl]phenyl}axetamit, hoặc muối được dụng hoặc sovat của nó, kết hợp với chất ức chế B-Raf *N*-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimetyletyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamit hoặc muối được dụng của nó được mô tả.

Chất ức chế MEK theo sáng chế được thể hiện bằng cấu trúc có công thức (I):



, hoặc muối được dụng hoặc sovat của nó (được đề cập chung ở đây là “hợp chất A”),

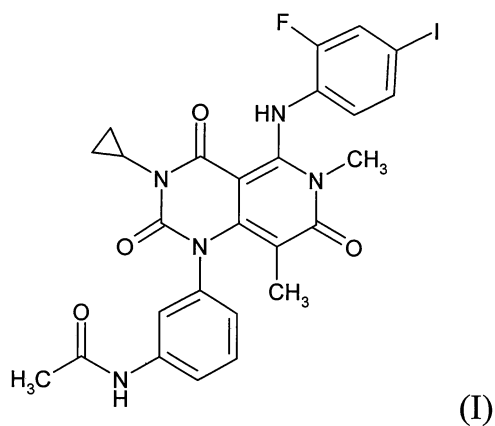
Chất ức chế B-Raf theo sáng chế được thể hiện bằng cấu trúc có công thức (II):



, hoặc muối được dụng của nó (được đề cập chung ở đây là “hợp chất B”).

Theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế, sáng chế đề xuất hỗn hợp chứa:

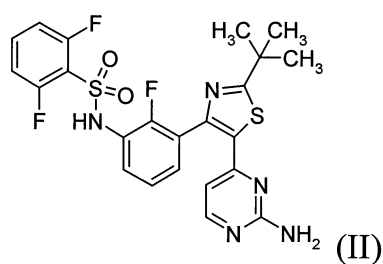
(i) hợp chất có công thức (I):



hoặc muối được dụng hoặc sovat của nó;

và

(ii) hợp chất có công thức (II)



hoặc muối được dụng của nó.

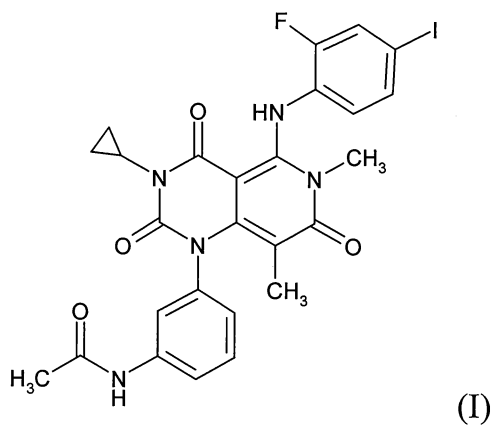
Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất hỗn hợp chứa

N-{3-[3-cyclopropyl-5-(2-fluoro-4-iodophenylamino)-6,8-dimethyl-2,4,7-trioxo-3,4,6,7-tetrahydro-2H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-1-yl]phenyl}acetamid dimetyl sulfoxit (solvat)

và N-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimethylethyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-fluorophenyl}-2,6-difluorobenzensulfonamid metansulfonat.

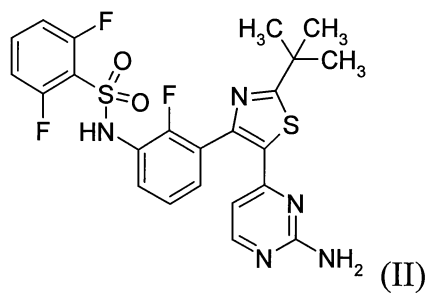
Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất hỗn hợp chứa:

(i) hợp chất có công thức (I):



hoặc muối được dụng hoặc sovat của nó; và

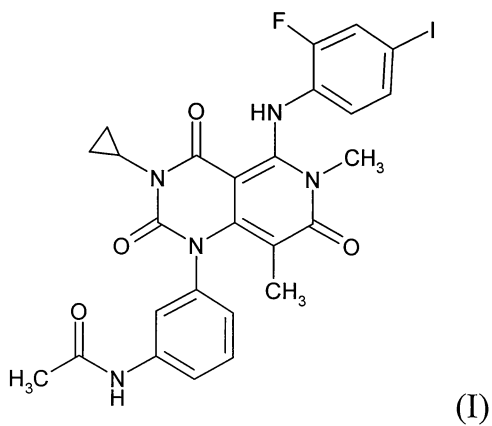
(ii) hợp chất có công thức (II):



hoặc muối được dụng của nó để sử dụng trong điều trị bệnh.

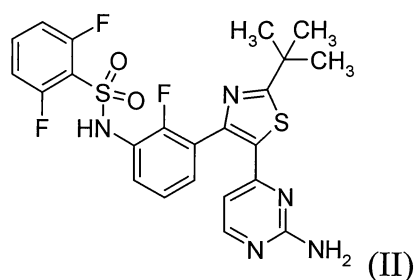
Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất hỗn hợp chứa:

(i) hợp chất có công thức (I):



hoặc muối được dụng hoặc sovat của nó; và

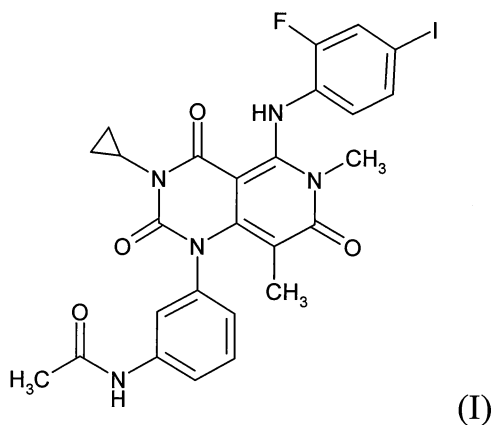
(ii) hợp chất có công thức (II):



hoặc muối được dụng của nó để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư.

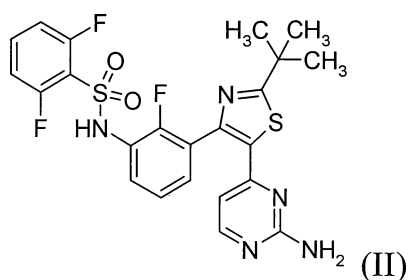
Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất được phẩm chứa:

(i) hợp chất có công thức (I):



hoặc muối được dụng hoặc sovat của nó; và

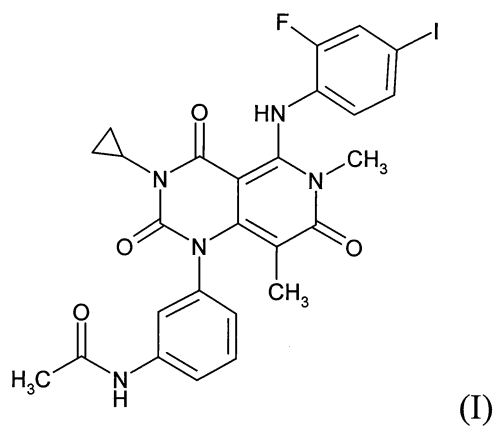
(ii) hợp chất có công thức (II):



hoặc muối được dụng của nó cùng với chất pha loãng hoặc chất mang được dụng.

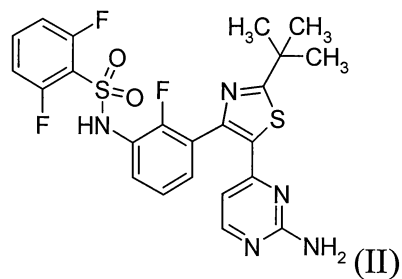
Theo khía cạnh khác sáng chế đề xuất việc sử dụng hỗn hợp chứa

i) hợp chất có công thức (I)



hoặc muối được dụng hoặc sovat của nó; và

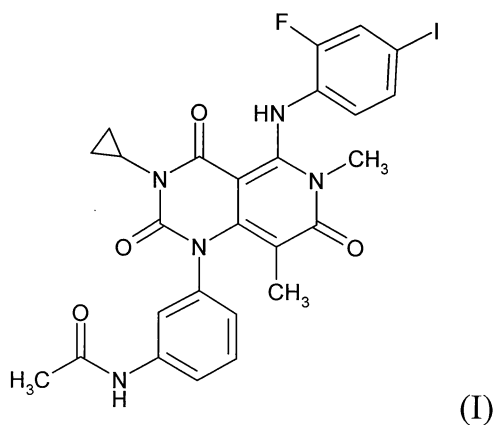
(ii) hợp chất có công thức (II):



hoặc muối được dụng của nó để sản xuất được phẩm để điều trị bệnh ung thư.

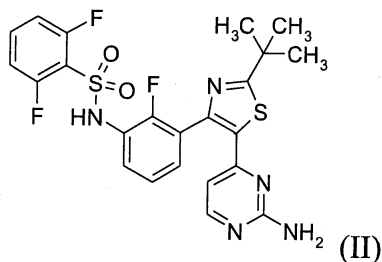
Theo khía cạnh ưu tiên sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở động vật có vú bao gồm dùng cho động vật có vú này:

(i) lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất có công thức (I)



hoặc muối được dụng hoặc sovat của nó; và

(ii) hợp chất có công thức (II):



hoặc muối được dùng của nó.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở người bao gồm dùng lượng có hiệu quả điều trị của hỗn hợp chứa *N*-{3-[3-xylopropyl-5-(2-fluoro-4-iodo-phenylamino)-6,8-dimethyl-2,4,7-trioxo-3,4,6,7-tetrahydro-2H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-1-yl]phenyl}acetamid, hoặc muối được dùng hoặc solvat của nó, và *N*-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimethylethyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamid hoặc muối được dùng của nó.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở người bao gồm dùng lượng có hiệu quả điều trị của hỗn hợp chứa *N*-{3-[3-xylopropyl-5-(2-fluoro-4-iodo-phenylamino)-6,8-dimethyl-2,4,7-trioxo-3,4,6,7-tetrahydro-2H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-1-yl]phenyl}acetamid dimethyl sulfoxit solvat và *N*-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimethylethyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamid metansulfonat.

Theo khía cạnh nữa của sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư cho động vật có vú bao gồm dùng lượng có hiệu quả điều trị của hỗn hợp theo sáng chế trong đó hỗn hợp này được dùng trong khoảng thời gian được chỉ định và trong khoảng thời gian dùng.

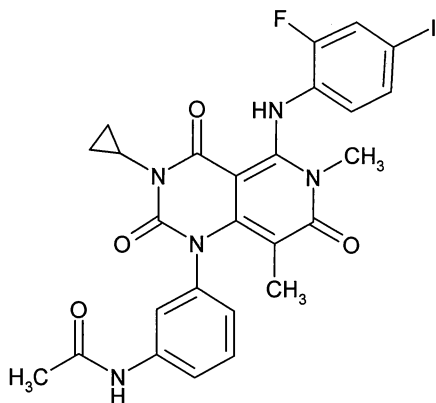
Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG. 1 là đồ thị thể hiện sự ức chế sinh trưởng khối u do dùng chất ức chế MEK là hợp chất A, chất ức chế B-Raf là hợp chất B, và hỗn hợp của nó.

FIG. 2 là đồ thị thể hiện sự ức chế sinh trưởng khối u do dùng chất ức chế MEK là hợp chất A, chất ức chế B-Raf là hợp chất B, và hỗn hợp của nó.

Mô tả chi tiết sáng chế

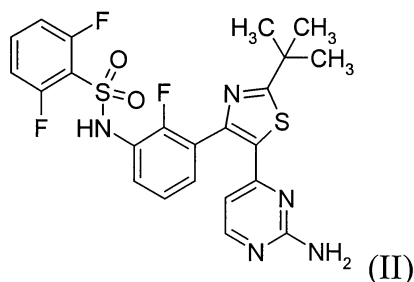
Như được sử dụng ở đây, chất ức chế MEK N-{3-[3-xyclopropyl-5-(2-flo-4-iodo-phenylamino)6,8-dimetyl-2,4,7-trioxo-3,4,6,7-tetrahydro-2H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-1-yl]phenyl}axetamit, hoặc muối được dụng hoặc solvat của nó, được thể hiện bằng hợp chất có công thức (I):



(I), hoặc muối được dụng hoặc solvat của nó. Để thuận tiện, nhóm gồm hợp chất và các muối hoặc các solvat có khả năng được đề cập chung là hợp chất A, nghĩa là tham chiếu đến hợp chất A sẽ đề cập đến bất kỳ trong số hợp chất hoặc dạng muối hoặc solvat được dụng của nó.

Phụ thuộc vào quy ước đặt tên, hợp chất có công thức (I) có thể cũng được đề cập thích hợp là N-{3-[3-xyclopropyl-5-[(2-flo-4-iodophenyl)amino]-6,8-dimetyl-2,4,7-trioxo-3,4,6,7-tetrahydropyrido[4,3-d]pyrimidin-1(2H)-yl]phenyl}axetamit.

Như được sử dụng ở đây, chất ức chế BRaf N-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimetyletyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamit hoặc muối được dụng của nó, được thể hiện bằng công thức hợp chất (II):



hoặc muối được dụng của nó. Để thuận tiện, nhóm gồm hợp chất và các muối có khả năng được đề cập chung là hợp chất B, nghĩa là tham chiếu đến hợp chất B sẽ đề cập đến bất kỳ trong số hợp chất này hoặc dạng muối được dụng của nó.

Như được sử dụng ở đây thuật ngữ “hỗn hợp theo sáng chế” đề cập đến hỗn hợp chứa hợp chất A và hợp chất B.

Như được sử dụng ở đây thuật ngữ “khối u tân sinh” đề cập đến sự sinh trưởng bất thường của các tế bào hoặc mô và được hiểu là bao gồm lành tính, nghĩa là, sự sinh trưởng không phải ung thư, và ác tính, nghĩa là, sự sinh trưởng của ung thư. Thuật ngữ “có tính chất khối u tân sinh” nghĩa là khối u hoặc liên quan đến khối u tân sinh.

Như được sử dụng ở đây thuật ngữ “chất” được hiểu nghĩa là cơ chất mà tạo nên tác dụng mong muốn trong mô, hệ cơ quan, động vật, động vật có vú, người, hoặc đối tượng khác. Do đó, thuật ngữ “chất chống khối u tân sinh” được hiểu nghĩa là cơ chất tạo nên hiệu quả chống khối u trong mô, hệ cơ quan, động vật, động vật có vú, người, hoặc đối tượng khác. Cũng được hiểu rằng “chất” có thể là đơn chất hoặc hỗn hợp hoặc chế phẩm gồm hai hoặc nhiều hợp chất.

Thuật ngữ “điều trị” và các dẫn xuất của nó như được sử dụng ở đây, nghĩa là liệu pháp chữa trị. Khi đề cập đến tình trạng bệnh cụ thể, điều trị nghĩa là: (1) làm thuyên giảm tình trạng bệnh hoặc một hoặc nhiều sự biểu hiện sinh học tình trạng bệnh này, (2) gây cản trở (a) một hoặc nhiều điểm trong chuỗi sinh học mà dẫn đến hoặc gây ra tình trạng bệnh hoặc (b) một hoặc nhiều sự biểu hiện sinh học tình trạng bệnh này (3) làm thuyên giảm một hoặc nhiều triệu chứng, các tác dụng hoặc các tác dụng phụ liên quan đến tình trạng bệnh này hoặc một hoặc nhiều triệu chứng, các tác động hoặc các tác dụng phụ liên quan đến tình trạng bệnh này hoặc điều trị nó, hoặc (4) làm chậm tiến triển tình trạng bệnh hoặc một hoặc nhiều biểu hiện sinh học của tình trạng bệnh này.

Như được sử dụng ở đây, “ngăn ngừa” được hiểu là đề cập đến việc dùng dược chất để phòng bệnh để giảm thiểu đáng kể khả năng xảy ra hoặc độ trầm trọng của tình trạng bệnh hoặc sự biểu hiện sinh học của nó, hoặc để trì hoãn sự khởi phát tình trạng bệnh này hoặc sự biểu hiện sinh học của nó. Chuyên gia trong ngành sẽ hiểu rằng “ngăn ngừa” không phải là thuật ngữ tuyệt đối. Liệu pháp phòng bệnh là thích hợp, ví dụ, khi đối tượng được xem là có nguy cơ cao phát triển bệnh ung thư, như khi đối tượng có tiền sử gia đình lớn bị mắc bệnh ung thư hoặc khi đối tượng đã bị tiếp xúc với chất gây ung thư.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “lượng có hiệu quả” nghĩa là lượng dược chất hoặc chất dược mà sẽ gây ra đáp ứng sinh học hoặc y học cho mô, hệ cơ quan, động vật hoặc người được yêu cầu, ví dụ, bởi nhà nghiên cứu hoặc bác sỹ lâm sàng.

Hơn nữa, thuật ngữ “lượng hiệu quả để điều trị” nghĩa là lượng bất kỳ mà khi được so sánh với đối tượng tương ứng không nhận được khối lượng này, dẫn đến điều trị, chữa trị, ngăn ngừa, hoặc làm thuyên giảm bệnh, rối loạn, hoặc tác dụng phụ được cải thiện, hoặc làm giảm tốc độ tiến triển của bệnh hoặc rối loạn. Thuật ngữ này cũng bao gồm lượng trong phạm vi của nó có hiệu quả để tăng cường chức năng sinh lý bình thường.

Các hợp chất A và/hoặc B có thể chứa một hoặc nhiều nguyên tử bất đối, hoặc có thể nói cách khác là có khả năng tồn tại là các chất đồng phân đối ảnh. Do đó, các hợp chất theo sáng chế bao gồm hỗn hợp các chất đồng phân đối ảnh cũng như các chất đồng phân đối ảnh tinh khiết hoặc hỗn hợp được làm giàu chất đồng phân đối ảnh. Do đó, cũng được hiểu rằng tất cả các tautome và hỗn hợp tautome đều thuộc phạm vi của hợp chất A và hợp chất B.

Do đó, các hợp chất A và B đã hiểu rằng có thể có mặt tách biệt hoặc cả hai là các solvat. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “solvat” đề cập đến phức hệ theo phép tính hợp thức biến đổi được tạo thành bởi chất tan (trong sáng chế này, các hợp chất có công thức (I) hoặc (II) hoặc muối của nó và dung môi. Các dung môi này cho mục đích của sáng chế không thể gây cản trở đến hoạt tính sinh học của chất tan. Các ví dụ về các dung môi thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, nước, metanol, dimethylsulforit, etanol và axit axetic. Theo một phương án, dung môi được sử dụng là dung môi được dụng. Các ví dụ về các dung môi được dụng thích hợp bao gồm, không chỉ giới hạn ở, nước, etanol và axit axetic. Theo khía cạnh khác, dung môi được sử dụng là nước.

Các hợp chất A và B có thể có khả năng kết tinh ở nhiều hơn một dạng, dạng đặc trưng được biết đến là hiện tượng đa hình, và được hiểu rằng các dạng đa hình này (“các chất đa hình”) là trong phạm vi của hợp chất A và B. Hiện tượng đa hình có thể thường xảy ra là đáp ứng với các sự thay đổi về nhiệt độ hoặc áp suất hoặc cả hai và có thể cũng thu được từ các sự biến đổi trong quá trình kết tinh. Các chất đa hình có thể được phân biệt bằng các đặc điểm vật lý khác nhau được biết trong lĩnh vực này như mô hình nhiễu xạ tia x, khả năng hòa tan, và điểm nóng chảy.

Hợp chất A được bộc lộ và yêu cầu được bảo hộ cùng với các muối được dụng của nó, và cũng như các solvat của nó, là hữu ích làm chất ức chế hoạt tính MEK, cụ thể là trong điều trị bệnh ung thư, trong công bố đơn quốc tế số 2005/121142. Hợp

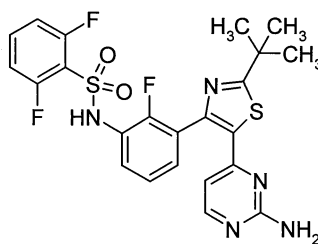
chất A là hợp chất nêu trong ví dụ 4-1. Hợp chất A có thể được điều chế như được mô tả trong công bố đơn quốc tế số 2005/121142.

Thích hợp là, hợp chất A là ở dạng dimetyl sulfoxit solvat. Thích hợp là, hợp chất A là ở dạng muối natri. Thích hợp là, hợp chất A là ở dạng solvat được chọn từ: hydrat, axit axetic, etanol, nitrometan, clobenzen, 1-pentancol, rượu isopropyl, etylen glycol và 3-metyl-1-butanol. Các solvat và các dạng muối này có thể được điều chế bởi chuyên gia trong ngành từ bản mô tả trong công bố đơn quốc tế số 2005/121142.

Hợp chất B được bộc lộ và yêu cầu bảo hộ, cùng với các muối được dụng của nó, là hữu dụng làm chất ức chế hoạt tính BRAf, cụ thể là trong điều trị bệnh ung thư, trong đơn PCT số PCT/US09/42682. Hợp chất B được thể hiện bởi các hợp chất nêu trong ví dụ từ 58a đến 58e của đơn này. Đơn PCT này được công bố ngày 12/11/2009 là công bố đơn quốc tế số WO2009/137391, và được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Cụ thể hơn, hợp chất B có thể được điều chế theo các phương pháp sau:

Phương pháp 1: Hợp chất B (dạng tinh thể thứ nhất) - *N*-{3-[5-(2-Amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimetyletyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamit

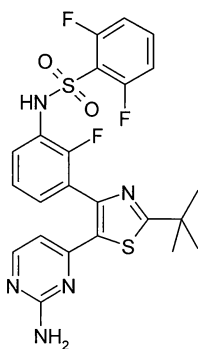


Gia nhiệt huyền phù chứa *N*-{3-[5-(2-clo-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimetyletyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamit (196mg, 0,364mmol) và amoniac trong metanol 7M (8mL, 56,0mmol) trong ống hàn kín đến 90°C trong 24h. Pha loãng phản ứng này bằng DCM và bổ sung gel silica và cô đặc. Sắc ký sản phẩm thô trên gel silica rửa giải bằng 100% DCM đến 1:1 [DCM:(9:1 EtOAc:MeOH)]. Các phân đoạn sạch được cô đặc thu được sản phẩm thô. Tái tinh chế sản phẩm thô này bằng HPLC pha ngược (gradien của axetonitril:nước với 0,1%TFA trong cả hai). Các phân đoạn sạch gom được được cô đặc sau đó được phân đoạn giữa DCM và NaHCO₃ bão hòa. Tách lớp DCM và làm khô qua Na₂SO₄. Thu được hợp chất nêu ở tiêu đề, *N*-

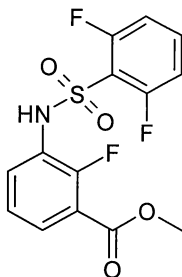
{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimethylethyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamit (94mg, hiệu suất 47%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 10,83 (s, 1 H), 7,93 (d, $J=5,2$ Hz, 1 H), 7,55 - 7,70 (m, 1 H), 7,35 - 7,43 (m, 1 H), 7,31 (t, $J=6,3$ Hz, 1 H), 7,14 - 7,27 (m, 3 H), 6,70 (s, 2 H), 5,79 (d, $J=5,13$ Hz, 1 H), 1,35 (s, 9 H), MS (ESI): 519,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Phương pháp 2: Hợp chất B (dạng tinh thể khác) - *N*-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimethylethyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamit 19,6mg *N*-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimethylethyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamit (có thể được điều chế theo phương pháp nêu trong ví dụ 58a) được hóa hợp với 500 μL ethyl axetat trong lọ 2ml ở nhiệt độ trong phòng. Hồ nhão này được quay vòng nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0-40°C trong 48 giờ. Hồ nhão thu được được làm mát đến nhiệt độ trong phòng và thu các chất rắn bằng lọc trong chân không. Các chất rắn được phân tích bằng các phân tích Raman, PXRD, DSC/TGA, cho thấy dạng tinh thể khác biệt với dạng tinh thể thu được từ ví dụ 58a, trên đây.

Phương pháp 3: Hợp chất B (dạng tinh thể khác, mẻ lớn) - *N*-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimethylethyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamit

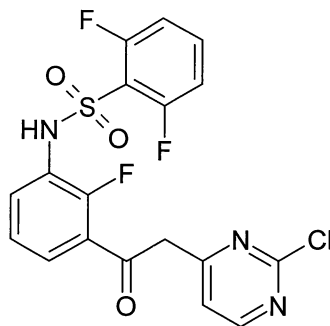


Bước A: metyl 3-{[(2,6-diflophenyl)sulfonyl]amino}-2-flobenzoat



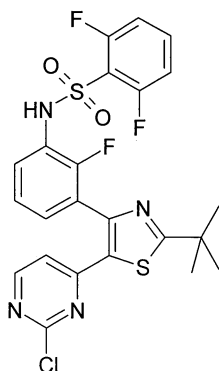
Nạp methyl 3-amino-2-flobenzoat (50g, 1 đương lượng) vào trong bình phản ứng sau đó đến diclometan (250mL, 5 thể tích). Khuấy hỗn hợp này và làm mát đến $\sim 15^{\circ}\text{C}$ và bổ sung pyridin (26,2mL, 1,1 đương lượng). Sau khi bổ sung pyridin, điều chỉnh bên trong bình phản ứng đến $\sim 15^{\circ}\text{C}$ và bắt đầu bổ sung 2,6-diflurorobenzensulfonyl clorua (39,7mL, 1,0 đương lượng) thông qua phễu. Nhiệt độ trong khi bổ sung này được giữ $< 25^{\circ}\text{C}$. Sau khi bổ sung xong, làm ấm bên trong bình phản ứng đến $20-25^{\circ}\text{C}$ và giữ qua đêm. Bổ sung etyl axetat (150mL) và loại bỏ diclometan bằng cách chưng cất. Ngay khi hoàn thành chưng cất, sau đó pha loãng hỗn hợp phản ứng nhiều hơn một lần bằng etyl axetat (5 thể tích) và cô đặc. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng etyl axetat (10 thể tích) và nước (4 thể tích) và gia nhiệt bên trong đến $50-55^{\circ}\text{C}$ kèm khuấy cho tới khi tất cả các chất rắn hòa tan. Các lớp này được lắng xuống và tách. Pha loãng lớp hữu cơ này bằng nước (4 thể tích) và gia nhiệt bên trong đến $50-55^{\circ}$ trong 20-30 phút. Các lớp này được lắng xuống và sau đó tách và làm bay hơi lớp etyl axetat dưới áp suất giảm đến ~ 3 thể tích. Bổ sung etyl axetat (5 thể tích) và làm bay hơi lại dưới áp suất giảm đến ~ 3 thể tích. Sau đó bổ sung xyclohexan (9 thể tích) vào bình phản ứng này và gia nhiệt bên trong đến nhiệt độ hồi lưu trong 30 phút sau đó làm lạnh đến 0°C . Lọc chất rắn và rửa bằng xyclohexan (2 x 100mL). Làm khô qua đêm các chất rắn này thu được methyl 3-[[2,6-diflophenyl)sulfonyl]amino}-2-flobenzoat (94,1g, 91%).

Bước B: *N*-{3-[(2-clo-4-pyrimidinyl)axetyl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamit



Pha loãng methyl 3-{[(2,6-diflophenyl)sulfonyl]amino}-2-flobenzoat (490g, 1 đương lượng), được điều chế thông thường theo bước A, trên đây, trong THF (2,45L, 5 thể tích) và khuấy và làm lạnh đến 0-3°C. Nạp dung dịch lithi bis(trimetylsilyl)amit 1M trong THF (5,25 L, 3,7 đương lượng) vào hỗn hợp phản ứng này sau đó bổ sung 2-clo-4-metylpyrimidin (238g, 1,3 đương lượng) trong THF (2,45L, 5 thể tích). Sau đó khuấy phản ứng này trong 1 giờ. Dừng phản ứng bằng HCl 4,5M (3,92L, 8 thể tích). Loại bỏ lớp chứa nước (lớp dưới đáy). Cô đặc lớp hữu cơ này dưới áp suất thấp đến ~2L. Bổ sung IPAC (isopropyl axetat) (2,45L) vào hỗn hợp phản ứng rồi sau đó được cô đặc đến ~2L. Bổ sung IPAC (0,5L) và MTBE (2,45 L) và khuấy qua đêm dưới N₂. Lọc các chất rắn. Các chất rắn và dịch lọc mẹ được bổ sung lại cùng nhau và khuấy trong một vài giờ. Lọc các chất rắn và rửa bằng MTBE (~5 thể tích). Các chất rắn được đặt vào lò chân không ở 50°C qua đêm. Làm khô các chất rắn trong lò chân không ở 30°C qua những ngày cuối tuần thu được *N*-{3-[(2-clo-4-pyrimidinyl)axetyl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamid (479g, 72%).

Bước C: *N*-{3-[5-(2-clo-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimetyletyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamid



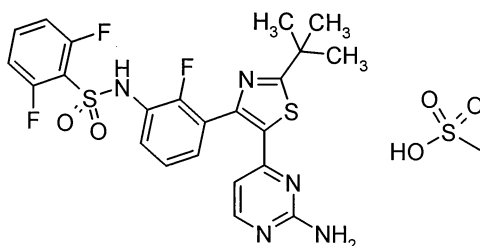
Cho vào bình phản ứng *N*-{3-[(2-clo-4-pyrimidinyl)axetyl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamit (30g, 1 đương lượng) sau đó đến diclometan (300mL). Làm mát hồ nhão phản ứng này đến ~10°C và bổ sung N-bromsucinimit (“NBS”) (12,09g, 1 đương lượng) theo 3 phần xấp xỉ bằng nhau, khuấy trong 10-15 phút giữa mỗi lần bổ sung. Sau khi bổ sung lần cuối NBS, làm ấm hỗn hợp phản ứng này đến ~20°C và khuấy trong 45 phút. Sau đó bổ sung nước (5 thể tích) vào bình phản ứng này và khuấy hỗn hợp phản ứng này và sau đó tách các lớp. Bổ sung lại nước (5 thể tích) vào lớp diclometan và khuấy hỗn hợp này và tách các lớp này. Các lớp diclometan được cô đặc đến ~120mL. Bổ sung etyl axetat (7 thể tích) vào hỗn hợp phản ứng này và cô đặc đến ~120mL. Sau đó bổ sung dimetylxetamit (270mL) vào hỗn hợp phản ứng này và làm lạnh đến ~10°C. Bổ sung theo 2 phần bằng nhau 2,2-dimetylpropanethioamit (1,3g, 0,5 đương lượng) vào bên trong bình phản ứng kèm khuấy trong ~5 phút giữa các lần bổ sung. Làm ấm phản ứng này đến 20-25°C. Sau 45 phút, gia nhiệt bên trong bình đến 75°C và giữ trong 1,75 giờ. Sau đó làm mát hỗn hợp phản ứng này đến 5°C và bổ sung chậm nước (270mL) giữ ở nhiệt độ dưới 30°C. Sau đó nạp vào etyl axetat (4 thể tích) và khuấy hỗn hợp này và tách các lớp. Bổ sung lại etyl axetat (7 thể tích) vào lớp chứa nước này và khuấy bên trong bình và tách. Bổ sung lại etyl axetat (7 thể tích) vào lớp chứa nước này và khuấy bên trong bình và tách. Gom các lớp hữu cơ và rửa bằng nước (4 thể tích) 4 lần và khuấy qua đêm ở 20-25°C. Các lớp hữu cơ sau đó được cô đặc dưới nhiệt độ cao và chân không đến 120mL. Sau đó, gia nhiệt bên trong bình này đến 50°C và bổ sung chậm heptan (120mL). Sau khi bổ sung heptan, gia nhiệt bên trong bình đến nhiệt độ hồi lưu sau đó làm lạnh đến 0°C và giữ trong ~2 giờ. Lọc chất rắn và rửa bằng heptan (2 x 2 thể tích). Sau đó làm khô sản phẩm rắn trong chân không ở 30°C thu được *N*-{3-[5-(2-clo-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimetyletyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamit (28,8g, 80%).

Bước D: *N*-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimetyletyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamit

Trong bình phản ứng có áp suất thể tích 1 galon, hỗn hợp chứa *N*-{3-[5-(2-clo-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimetyletyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamit (120g) được điều chế theo bước C, trên đây, và amoni hydroxit (28-30%, 2,4L, 20 thể tích) được gia nhiệt trong bình phản ứng có áp suất được hàn

kín đến 98-103°C và khuấy ở nhiệt độ này trong 2 giờ. Làm mát hỗn hợp này từ từ đến nhiệt độ trong phòng (20°C) và khuấy qua đêm. Lọc chất rắn và rửa bằng lượng tối thiểu nước cái và làm khô trong chân không. Các chất rắn này được bổ sung vào hỗn hợp gồm EtOAc (15 thể tích)/ nước (2 thể tích) và gia nhiệt để hòa tan hoàn toàn ở 60-70°C và loại bỏ lớp chứa nước. Lớp EtOAc được nạp thêm nước (1 thể tích) và trung hòa bằng dung dịch nước HCl đến ~pH 5,4-5,5 và bổ sung thêm nước (1 thể tích). Loại bỏ lớp chứa nước ở 60-70°C. Rửa lớp hữu cơ này bằng nước (1 thể tích) ở 60-70°C và loại bỏ lớp chứa nước này. Lọc lớp hữu cơ ở 60°C và cô đặc đến 3 thể tích. EtOAc (6 thể tích) được nạp vào trong hỗn hợp này và gia nhiệt và khuấy ở 72°C trong 10 phút, sau đó làm mát đến 20°C và khuấy qua đêm. Loại bỏ EtOAc thông qua chưng cất chân không để cô đặc hỗn hợp phản ứng này đến ~3 thể tích. Duy trì hỗn hợp phản ứng này ~65-70°C trong ~30 phút. Các sản phẩm kết tinh có dạng tinh thể giống nhau là các dạng tinh thể như được điều chế trong ví dụ 58b (và có thể điều chế bằng quy trình của ví dụ 58b), trên đây, trong heptan bunn nhão được nạp. Bổ sung từ từ heptan (9 thể tích) ở 65-70°C. Bunn nhão này được khuấy ở 65-70°C trong 2-3 giờ và sau đó làm lạnh từ từ đến 0-5°C. Lọc sản phẩm này, rửa bằng EtOAc/heptan (3/1 theo thể tích, 4 thể tích) và làm khô ở 45°C trong chân không thu được *N*-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimethyletyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamit (102,3g, 88%).

Phương pháp 4: Hợp chất B (muối mesylat) - *N*-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimethyletyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamit metansulfonat



Cho vào dung dịch *N*-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimethyletyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamit (204mg, 0,393mmol) trong isopropanol (2mL), axit metansulfonic (0,131mL, 0,393mmol) và khuấy dung dịch này

ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Kết tủa trắng tạo thành và lọc hồ nhão và rửa bằng diethyl ete thu được sản phẩm nêu ở tiêu đề là chất rắn kết tinh màu trắng (210mg, hiệu suất 83%). ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 10,85 (s, 1 H) 7,92 - 8,05 (m, 1 H) 7,56 - 7,72 (m, 1 H) 6,91 - 7,50 (m, 7 H) 5,83 - 5,98 (m, 1 H) 2,18 - 2,32 (m, 3 H) 1,36 (s, 9 H). MS (ESI): 520,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Phương pháp 5: Hợp chất B (phương án muối mesylat khác) - *N*-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimethylethyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamid metansulfonat

N-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimethylethyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamid (là có thể được điều chế theo ví dụ 58a) (2,37g, 4,56mmol) được hóa hợp với axetonitril được lọc sơ bộ (5,25 thể tích, 12,4mL). Dung dịch axit mesic được lọc sơ bộ (1,1 đương lượng, 5,02mmol, 0,48g) trong H_2O (0,75 đương lượng, 1,78mL) được bổ sung ở 20°C. Nhiệt độ của hỗn hợp thu được được tăng lên đến 50-60°C trong khi duy trì tốc độ khuấy chậm. Ngay khi nhiệt độ hỗn hợp phản ứng đạt đến 50-60°C, bổ sung hạt hồ nhão *N*-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimethylethyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamid metansulfonat (1,0 % trọng lượng được tạo bùn nhão trong 0,2 thể tích axetonitril được lọc sơ bộ), và để hỗn hợp này trong khi khuấy tốc độ nhanh đủ để giữ các chất rắn không lắng ở 50-60°C trong 2 giờ. Sau đó, làm lạnh hỗn hợp này đến 0-5°C ở 0,25°C/phút và giữ ở 0-5°C trong 6h. Lọc hỗn hợp này và rửa bánh ướt hai lần bằng axetonitril được lọc sơ bộ. Lần rửa thứ nhất chứa 14,2ml (6 thể tích) axetonitril được lọc sơ bộ và lần rửa thứ hai gồm 9,5mL (4 thể tích) axetonitril được lọc sơ bộ. Làm khô chất rắn ướt ở 50°C trong chân không, thu được 2,39g (hiệu suất 85,1%) sản phẩm.

Điện hình là, các muối theo sáng chế là các muối được dụng. Các muối này bao hàm trong thuật ngữ "các muối được dụng" đề cập đến các muối không độc của các hợp chất theo sáng chế. Các muối của các hợp chất theo sáng chế có thể bao gồm các muối cộng axit có nguồn gốc từ nitơ trên phần tử thế trong hợp chất theo sáng chế. Các muối điện hình bao gồm các muối sau: axetat, benzensulfonat, benzoat, bicarbonat, bisulfat, bitartrat, borat, bromua, canxi edetat, camsylat, cacbonat, clorua, clavulanat,

xitrat, dihydroclorua, edetat, edisylat, estolat, esylat, fumarat, gluceptat, gluconat, glutamat, glycolylarsanilat, hexylresorcinat, hydrabamin, hydrobromua, hydroclorua, hydroxynaphthoat, iodu, isethionat, lactat, lactobionat, laurat, malat, maleat, mandelat, mesylat, metylbromua, metylnitrat, metylsulfat, monokali maleat, mucat, napsylat, nitrat, N-metylglucamin, oxalat, pamoat (embonat), palmitat, pantothenat, phosphat/diphosphat, polygalacturonat, kali, salixylat, natri, stearat, subaxetat, succinat, tannat, tartrat, teoclat, tosylat, triethiodit, trimetylamoni và valerat. Các muối khác, không phải là dược dụng, có thể là hữu dụng trong điều chế các hợp chất theo sáng chế và các muối này tạo thành khía cạnh nữa theo sáng chế. Các muối có thể được điều chế dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Trong khi có thể là, để sử dụng trong điều trị bệnh, các hợp chất A và B, có thể được dùng như hóa chất thô, có thể trình bày thành phần hoạt tính dưới dạng dược phẩm. Do đó, sáng chế còn đề xuất đến các dược phẩm chứa hợp chất A và/hoặc hợp chất B, và một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược dược dụng. Các hợp chất A và B là như dược mô tả trên đây. (Các) chất mang, (các) chất pha loãng, hoặc (các) tá dược này phải là dược dụng với ý nghĩa là tương thích với các thành phần khác của công thức, có khả năng bào chế thành dược phẩm, và không độc với người nhận nó. Theo khía cạnh khác, sáng chế cũng đề xuất quy trình bào chế dược phẩm bao gồm trộn hợp chất A và/hoặc hợp chất B, với một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược dược dụng. Các thành phần này của dược phẩm được sử dụng có thể được trình bày trong các dược phẩm tách biệt hoặc được tạo dạng bào chế cùng nhau trong một dược phẩm. Do đó, sáng chế còn đề xuất hỗn hợp các dược phẩm, một trong số chúng gồm hợp chất A và một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược dược dụng và dược phẩm chứa hợp chất B và một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược dược dụng.

Hợp chất A và hợp chất B là như dược mô tả trên đây và có thể được sử dụng trong chế phẩm bất kỳ được mô tả trên đây.

Các dược phẩm có thể được trình bày ở dạng liều đơn vị chứa lượng thành phần hoạt tính được chỉ định trước cho mỗi liều đơn vị. Như được biết bởi chuyên gia trong ngành, lượng thành phần hoạt tính cho mỗi liều sẽ phụ thuộc vào tình trạng bệnh được điều trị, đường dùng và độ tuổi, trọng lượng và tình trạng của người bệnh. Các chế phẩm phân liều đơn vị ưu tiên là các chế phẩm chứa liều dùng hoặc liều chia nhỏ hằng

ngày, hoặc phần thích hợp của nó, hoạt chất. Hơn nữa, các dược phẩm này có thể được bào chế bằng phương pháp bất kỳ được biết nhiều trong lĩnh vực dược.

Các hợp chất A và B có thể được dùng theo đường thích hợp bất kỳ. Các đường thích hợp bao gồm dùng theo đường miệng, trực tràng, mũi, khu trú (bao gồm trong má và dưới lưỡi), âm đạo, và ngoài đường tiêu hóa (bao gồm qua đường dưới da, trong cơ, trong tĩnh mạch, trong biểu bì, trong vỏ, và trên màng cứng). đường dùng ưu tiên sẽ được hiểu rằng có thể được thay đổi với, ví dụ, tình trạng bệnh của người nhận hỗn hợp này và bệnh ung thư cần được điều trị. Mỗi chất được dùng cũng sẽ được hiểu rằng có thể được dùng bằng các đường dùng giống nhau hoặc khác nhau và các hợp chất A và B có thể được tạo thành công thức cùng nhau trong một dược phẩm.

Các dược phẩm được điều chỉnh để dùng theo đường miệng có thể được trình bày dưới dạng các đơn vị tách biệt chẳng hạn các viên nang hoặc các viên nén; bột hoặc hạt; các dung dịch hoặc huyền phù trong dịch lỏng chứa nước hoặc không chứa nước; bột không độc; hoặc các nhũ tương lỏng dầu trong nước hoặc các nhũ tương lỏng nước trong dầu.

Ví dụ, để dùng theo đường miệng ở dạng viên nén hoặc viên nang, các thành phần dược chất có thể được kết hợp với chất mang trợ dược dụng không độc, dùng theo đường miệng như etanol, glyxerol, nước và chất tương tự. Các bột được bào chế bằng cách nghiền nhỏ hợp chất này đến kích thước hạt mịn thích hợp và trộn với chất mang dược dụng được nghiền tương tự như cacbohydrat không độc, ví dụ như, tinh bột hoặc manitol. Hương liệu, chất bảo quản, chất phân tán và chất màu có thể cũng có mặt.

Các viên nang được sản xuất bằng cách bào chế hỗn hợp bột như được mô tả trên đây, và nạp vào các vỏ gelatin đã được định hình. Các chất làm trượt và chất làm trơn như silica keo, bột talc, magiê stearat, canxi stearat hoặc polyetylen glycol rắn có thể được bổ sung vào hỗn hợp bột này trước khi đóng vào vỏ nang. Chất hòa tan hoặc phân tán thạch aga, canxi cacbonat hoặc natri cacbonat có thể cũng được bổ sung để cải thiện lợi ích của dược phẩm này khi viên nang này được tiêu hóa.

Hơn nữa, nếu muốn hoặc nếu cần, các chất gắn kết, chất làm trơn, chất làm rã và chất màu thích hợp có thể cũng cho tạo hạt, hỗn hợp bột này có thể được chạy thông qua máy tạo viên nén và kết quả là tạo thành các viên không hoàn hảo được bẻ

gây thành các hạt. Các hạt này có thể được bôi trơn để được đưa vào trong hỗn hợp này. Các chất gắn kết thích hợp bao gồm tinh bột, gelatin, đường tự nhiên như glucoza hoặc beta-lactoza, chất làm ngọt từ ngô, các gôm tự nhiên và tổng hợp như cây keo acacia, tragacanth hoặc natri alginat, carboxymethylxenluloza, polyetylen glycol, sáp và chất tương tự. Các chất làm trơn được sử dụng trong các dạng phân liều này bao gồm natri oleat, natri stearat, magiê stearat, natri benzoat, natri axetat, natri clorua và chất tương tự. Các chất làm rã bao gồm, không chỉ giới hạn ở, tinh bột, metyl xenluloza, thạch aga, bentonit, gôm xanthan và chất tương tự. Các viên nén được tạo dạng bào chế, ví dụ, bằng cách bào chế hỗn hợp bột, tạo hạt hoặc tạo viên nhỏ, bổ sung chất làm trơn và chất làm rã và ép thành các viên nén. Hỗn hợp bột được bào chế bằng cách trộn hợp chất này, được nghiền thích hợp, với chất pha loãng hoặc chất độn như được mô tả trên đây, và tùy ý với chất gắn kết như carboxymethylxenluloza, aliginat, gelatin, hoặc polyvinyl pyrrolidon, chất làm chậm dung dịch như parafin, chất làm nhanh tái hấp thu như muối bậc bốn và/hoặc chất hấp thu như bentonit, kaolin hoặc dicanxi phosphat. Hỗn hợp bột có thể được tạo hạt bằng cách làm ướt với chất gắn kết như sirô, hồ nhão tinh bột, keo acadia hoặc các dung dịch chứa nguyên liệu xenluloza hoặc polyme và tạo hạt thông qua sàng. Cách khác để ngăn ngừa sự dính khuôn tạo thành viên nén bằng cách bổ sung axit stearic, muối stearat, bột talc hoặc dầu vô cơ. Sau đó, hỗn hợp được làm trơn được nén thành các viên nén. Hợp chất theo sáng chế có thể cũng được kết hợp không có chất mang trợ chảy và được nén thành các viên nén trực tiếp không cần đi qua bước tạo hạt hoặc tạo viên nhỏ. Lớp bảo vệ trong hoặc cản quang chứa lớp vỏ bọc kín, lớp vỏ đường hoặc nguyên liệu polyme và lớp vỏ sáp bong có thể được cung cấp. Các thuốc nhuộm có thể được bổ sung vào lớp vỏ này để phân biệt các dạng phân liều đơn vị khác nhau.

Các dịch dùng theo đường miệng như dung dịch, sirô và cồn ngọt có thể được bào chế ở dạng liều đơn vị để cho số lượng nhất định chứa lượng hợp chất này đã được xác định trước. Sirô có thể được bào chế bằng cách hòa tan hợp chất này trong dung dịch nước được tạo hương vị thích hợp, trong khi cồn ngọt được bào chế thông qua việc sử dụng tá dược lỏng chứa rượu không độc. Các huyền phù có thể được tạo dạng bào chế bằng cách phân tán hợp chất này trong tá dược lỏng không độc. Các chất hòa tan và các chất nhũ hóa như các rượu các isostearyl được etoxyl hóa và các polyoxyetylen sorbitol ete, các chất bảo quản, các chất phụ gia hương liệu như dầu bạc hà hoặc

các chất làm ngọt tự nhiên hoặc sacharin hoặc các chất làm ngọt nhân tạo khác, và các chất tương tự có thể cũng được bổ sung vào.

Nếu thích hợp, các chế phẩm dùng theo đường miệng có thể được tạo vi nang. Chế phẩm này có thể cũng được điều chế để kéo dài hoặc duy trì sự giải phóng như ví dụ bằng cách phủ hoặc gắn nguyên liệu hạt trong các polyme, sáp hoặc chất tương tự.

Các chất để sử dụng theo sáng chế có thể cũng được dùng ở dạng các hệ thống phân phối liposom, như các bong đơn lớp nhỏ, các bong đơn lớp lớn và các bong đa lớp. Các liposom có thể được tạo thành từ nhiều phospholipit khác nhau, như cholesterol, stearylamin hoặc phosphatidylcholin.

Các chất để sử dụng theo sáng chế có thể cũng được phân phối bằng cách sử dụng các kháng thể đơn dòng làm các chất mang riêng biệt được nối với các phân tử hợp chất này. Các hợp chất này có thể cũng được bắt cặp với các polyme hòa tan làm các chất mang được chất đích. Các polyme này có thể bao gồm polyvinylpyrrolidon, pyran copolyme, polyhydroxypropylmetacrylamit-phenol, polyhydroxyetylaspartamitphenol, hoặc polyetylenoxitpolylysin được thể bằng các gốc palmitoyl. Hơn nữa, các hợp chất này có thể được bắt cặp với lớp gồm các polyme có thể phân hủy sinh học hữu dụng để đạt được sự giải phóng được chất được kiểm soát, ví dụ, axit polylactic, polepsilon caprolacton, axit polyhydroxy butyric, các polyorthoeste, các polyaxetal, các polydihydropyran, các polyxyanoacrylat và các copolyme của hydrogel khối lượng tính hoặc được liên kết chéo.

Các dược phẩm được điều chỉnh để dùng qua da có thể được trình bày là các miếng dán riêng biệt nhằm để giữ sự tiếp xúc chặt chẽ với biểu bì của người nhận trong khoảng thời gian dùng dài. Ví dụ, thành phần hoạt tính có thể được phân phối từ miếng dán bằng điện chuyển ion như được mô tả chung trong Pharmaceutical Research, 3(6), 318 (1986).

Các dược phẩm được điều chỉnh để dùng khu trú có thể được tạo dạng bào chế là pomat, kem, huyền phù, thuốc xức, bột, dung dịch, hồ nhão, gel, thuốc xịt, sol khí hoặc dầu.

Để điều trị cho mắt hoặc các mô bên ngoài khác, ví dụ miệng và da, các chế phẩm này tốt hơn là được dùng là thuốc mỡ hoặc kem dùng khu trú. Khi được tạo dạng bào chế ở dạng thuốc mỡ, thành phần hoạt tính có thể được sử dụng với chất nền

parafin hoặc thuốc mỡ có thể trộn với nước. Theo cách khác, thành phần hoạt tính có thể được tạo dạng bào chế thành kem với chất nền kem dầu trong nước hoặc chất nền nước trong dầu.

Các dược phẩm được điều chỉnh để dùng khu trú cho mắt bao gồm thuốc nhỏ giọt vào mắt trong đó thành phần hoạt tính được hòa tan hoặc tạo huyền phù trong chất mang thích hợp, đặc biệt là dung môi chứa nước.

Các dược phẩm được điều chỉnh để dùng khu trú trong miệng bao gồm viên thuốc hình thoi, viên ngậm và nước súc miệng.

Các dược phẩm được điều chỉnh để dùng theo đường trực tràng có thể được trình bày dạng thuốc đạn hoặc dạng dung dịch thụt.

Các dược phẩm được điều chỉnh để dùng qua mũi trong đó chất mang là dạng rắn bao gồm bột thô có kích thước hạt ví dụ nằm trong khoảng từ 20 đến 500 micron mà được dùng theo phương thức trong đó thuốc bột để hít được hấp thụ, nghĩa là bằng cách xông nhanh thông qua đường mũi từ vật chứa bột này được giữ gần với mũi. Các chế phẩm thích hợp trong đó chất mang là chất lỏng, để dùng là thuốc xịt mũi hoặc là thuốc nhỏ giọt mũi, bao gồm dung dịch nước hoặc dầu chứa thành phần hoạt tính này.

Các dược phẩm được điều chỉnh để dùng bằng cách xông bao gồm bụi hạt mịn hoặc hoặc sương mù mà có thể được tạo ra bằng nhiều cách sử dụng các loại phương tiện khác nhau bao gồm khí dung nén định liều, máy khí dung hoặc khí cụ bơm.

Các dược phẩm được điều chỉnh để dùng qua đường âm đạo có thể được trình bày là thuốc đặt âm đạo, nút gạc, kem, gel, hồ nhão, bột hoặc các chế phẩm phun.

Các dược phẩm được điều chỉnh để dùng ngoài đường tiêu hóa bao gồm các dung dịch thuốc tiêm vô trùng chứa nước và không chứa nước mà có thể chứa các chất chống oxy hóa, các đệm, các chất kìm hãm vi khuẩn và các dung dịch thuốc mà làm cho các chế phẩm đẳng trương với máu của người nhận; và các huyền phù vô trùng chứa nước và không chứa nước có thể chứa các chất tạo huyền phù và các chất làm đặc. Các chế phẩm này có thể được trình bày trong các vật chứa liều đơn vị hoặc đa liều, ví dụ các ống túi nang và các lọ thủy tinh hàn kín, và có thể được giữ trong điều kiện khô lạnh (đông khô) chỉ cần bổ sung chất mang lỏng vô trùng, ví dụ nước trước

khi tiêm, ngay trước khi sử dụng. Các dung dịch và các huyền phù tiêm ngay có thể được bảo chế từ bột, hạt và viên nén vô trùng.

Nên hiểu rằng ngoài các thành phần được đề cập cụ thể trên đây, các chế phẩm có thể chứa các chất khác thông thường trong lĩnh vực có liên quan đến loại chế phẩm quan tâm, ví dụ các chế phẩm thích hợp để dùng theo đường miệng có thể chứa các hương liệu.

Trừ khi được định nghĩa khác, trong tất cả các quy trình định liều được mô tả trên đây, phác đồ dùng các hợp chất này không bắt buộc phải bắt đầu dùng khi bắt đầu điều trị và kết thúc dùng khi kết thúc điều trị, mà chỉ cần là số ngày liên tiếp trong đó cả hai hợp chất được dùng và số ngày liên tiếp tùy ý trong đó chỉ một trong số các hợp chất thành phần được dùng, hoặc quy trình định liều bắt buộc – bao gồm khối lượng hợp chất được dùng, xảy ra ở một số thời điểm trong quá trình điều trị.

Các hợp chất A và B có thể được sử dụng trong hỗn hợp theo sáng chế bằng cách dùng đồng thời trong dược phẩm đơn vị chứa cả hai hợp chất này. Theo cách khác, hỗn hợp này có thể được dùng tách biệt trong các dược phẩm tách biệt, mỗi chế phẩm chứa một trong số các hợp chất A và B theo phương thức trình tự lần lượt trong đó, ví dụ, hợp chất A hoặc hợp chất B được dùng đầu tiên một hợp chất và tiếp theo là hợp chất còn lại. Việc dùng lần lượt theo trật tự này có thể là ở các thời điểm gần nhau (ví dụ đồng thời) hoặc ở các thời điểm cách xa nhau. Hơn nữa, không quan trọng nếu các hợp chất được dùng ở dạng phân liều giống nhau, ví dụ một hợp chất có thể được dùng khu trú và hợp chất còn lại có thể được dùng theo đường miệng. Thích hợp là, cả hai hợp chất này được dùng theo đường miệng.

Do đó theo một phương án, một hoặc đa liều dùng hợp chất A được dùng đồng thời hoặc tách biệt với một hoặc đa liều dùng hợp chất B.

Trừ khi được định nghĩa khác, trong tất cả các quy trình định liều được mô tả ở đây, phác đồ dùng các hợp chất này không bắt buộc phải bắt đầu dùng khi bắt đầu điều trị và kết thúc dùng khi kết thúc điều trị, mà chỉ cần là số ngày liên tiếp trong đó cả hai hợp chất được dùng và số ngày liên tiếp tùy ý trong đó chỉ một trong số các hợp chất thành phần được dùng, hoặc quy trình định liều bắt buộc – bao gồm khối lượng hợp chất được dùng, xảy ra ở một số thời điểm trong quá trình điều trị.

Theo một phương án, đa liều dùng hợp chất A được dùng đồng thời hoặc tách biệt với đa liều dùng hợp chất B.

Theo một phương án, đa liều dùng hợp chất A được dùng đồng thời hoặc tách biệt với liều đơn dùng hợp chất B.

Theo một phương án, liều đơn dùng hợp chất A được dùng đồng thời hoặc tách biệt với đa liều dùng hợp chất B.

Theo một phương án liều đơn dùng hợp chất A được dùng đồng thời hoặc tách biệt với liều đơn dùng hợp chất B.

Trong tất cả các phương án trên hợp chất A có thể được dùng trước hoặc hợp chất B có thể được dùng trước.

Các hỗn hợp này có thể được trình bày là kit hỗn hợp. Thuật ngữ “kit hỗn hợp” “hoặc kit gồm các phần” như được sử dụng ở đây nghĩa là dược phẩm hoặc các dược phẩm mà được sử dụng để dùng hợp chất A và hợp chất B theo sáng chế. Khi cả hai hợp chất được dùng đồng thời, kit hỗn hợp có thể chứa hợp chất A và hợp chất B trong một dược phẩm, như viên nén, hoặc trong các dược phẩm tách biệt. Khi hợp chất A và B không được dùng đồng thời, kit hỗn hợp sẽ chứa hợp chất A và hợp chất B trong các dược phẩm tách biệt trong một gói hoặc hợp chất A và hợp chất B trong các dược phẩm tách biệt trong các gói tách biệt.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất kit gồm các phần chứa các thành phần:

hợp chất A cùng với các tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng; và
hợp chất B cùng với các tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

Theo một phương án theo sáng chế kit gồm các phần chứa các thành phần sau:

hợp chất A cùng với các tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng; và
hợp chất B cùng với các tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng,
trong đó các thành phần được cung cấp ở dạng thích hợp để dùng lần lượt, tách biệt và/hoặc đồng thời.

Theo một phương án kit gồm các phần bao gồm:

vật chứa thứ nhất chứa hợp chất A cùng với các tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng; và

vật chứa thứ hai chứa hợp chất B cùng với các tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng, và vật chứa nghĩa là để chứa vật chứa thứ nhất và thứ hai này.

Kit hỗn hợp có thể cũng được cung cấp hướng dẫn, như hướng dẫn liều dùng và cách dùng. Các hướng dẫn liều dùng và cách dùng này có thể là loại hướng dẫn cung cấp cho bác sỹ, ví dụ bằng nhãn sản phẩm dược chất, hoặc chúng có thể là loại mà bác sỹ cung cấp, như các hướng dẫn cho người bệnh.

Thuật ngữ “liều tăng cường” như được sử dụng ở đây sẽ được hiểu rằng có nghĩa là liều đơn hoặc phác đồ dùng trong thời gian ngắn hợp chất A hoặc hợp chất B có liều dùng cao hơn liều dùng duy trì được dùng cho đối tượng để, ví dụ, gia tăng nhanh mức dược chất này tập trung trong máu. Thích hợp là, phác đồ dùng trong thời gian ngắn để sử dụng ở đây sẽ nằm trong khoảng từ: 1 đến 14 ngày; thích hợp là từ 1 đến 7 ngày; thích hợp là từ 1 đến 3 ngày; thích hợp là trong ba ngày; thích hợp là trong hai ngày; thích hợp là trong một ngày. Trong một số phương án, “liều tăng cường” có thể gia tăng nồng độ dược chất này trong máu đến mức hiệu quả để điều trị. Trong một số phương án, “liều tăng cường” có thể gia tăng nồng độ dược chất này trong máu đến mức có hiệu quả điều trị cùng với liều duy trì dược chất này. “Liều tăng cường” có thể được dùng một lần một ngày, hoặc nhiều hơn một lần mỗi ngày (ví dụ, lên đến 4 lần mỗi ngày). Thích hợp là “liều tăng cường” sẽ được dùng một lần mỗi ngày. Thích hợp là, liều tăng cường sẽ là khối lượng cao gấp từ 2 đến 100 lần liều duy trì; thích hợp là từ 2 đến 10 lần; thích hợp là từ 2 đến 5 lần; thích hợp là 2 lần; thích hợp là 3 lần; thích hợp là 4 lần; thích hợp là 5 lần. Thích hợp là, liều tăng cường này sẽ được dùng trong khoảng từ 1 đến 7 ngày; thích hợp là từ 1 đến 5 ngày; thích hợp là từ 1 đến 3 ngày; thích hợp là trong 1 ngày; thích hợp là trong 2 ngày; thích hợp là trong 3 ngày, sau quy trình định liều duy trì.

Thuật ngữ “liều duy trì” như được sử dụng ở đây sẽ được hiểu nghĩa là liều được dùng liên tiếp (ví dụ; ít nhất hai lần), và liều nhằm để gia tăng chậm các mức hợp chất này tập trung trong máu đến mức hiệu quả để điều trị, hoặc để duy trì mức có hiệu quả điều trị của này. Mức duy trì thường được dùng một lần mỗi ngày và liều hằng ngày của liều dùng duy trì sẽ thấp hơn tổng liều hằng ngày của liều tăng cường.

Thích hợp là các hỗn hợp theo sáng chế được dùng trong “khoảng thời gian được chỉ định”.

Thuật ngữ “khoảng thời gian được chỉ định” và các từ có nguồn gốc từ từ này, như được sử dụng ở đây nghĩa là khoảng thời gian dùng giữa lần dùng một trong số hợp chất A và hợp chất B và hợp chất còn lại trong số hợp chất A và hợp chất B. Trừ khi được định nghĩa khác, khoảng thời gian được chỉ định có thể bao gồm dùng đồng thời. Khi cả hai hợp chất theo sáng chế được dùng một lần một ngày, khoảng thời gian được chỉ định đề cập đến việc dùng hợp chất A và hợp chất B trong một ngày. Khi một hoặc cả hai hợp chất theo sáng chế được dùng nhiều hơn một lần một ngày, khoảng thời gian được chỉ định được tính toán dựa trên lần dùng thứ nhất mỗi hợp chất trong ngày cụ thể. Tất cả việc dùng hợp chất theo sáng chế mà sau lần dùng thứ nhất trong ngày cụ thể không được xem xét khi tính toán khoảng thời gian được chỉ định.

Thích hợp là, nếu các hợp chất cả hai được dùng với nhau trong khoảng 24 giờ— trong trường hợp này, khoảng thời gian được chỉ định sẽ là khoảng 24 giờ; thích hợp là cả hai sẽ được dùng với nhau trong khoảng 12 giờ— trong trường hợp này, khoảng thời gian được chỉ định sẽ là 12 giờ; thích hợp là cả hai sẽ được dùng với nhau trong khoảng 11 giờ – trong trường hợp này, khoảng thời gian được chỉ định sẽ là khoảng 11 giờ; thích hợp là cả hai sẽ được dùng với nhau trong khoảng 10 giờ— trong trường hợp này, khoảng thời gian được chỉ định sẽ là khoảng 10 giờ; thích hợp là cả hai sẽ được dùng trong khoảng 9 giờ với nhau – trong trường hợp này, khoảng thời gian được chỉ định sẽ là khoảng 9 giờ; thích hợp là cả hai sẽ được dùng trong khoảng 8 giờ với nhau – trong trường hợp này, khoảng thời gian được chỉ định sẽ là khoảng 8 giờ; thích hợp là cả hai sẽ được dùng trong khoảng 7 giờ với nhau – trong trường hợp này, khoảng thời gian được chỉ định sẽ là khoảng 7 giờ; thích hợp là cả hai sẽ được dùng trong khoảng 6 giờ với nhau – trong trường hợp này, khoảng thời gian được chỉ định sẽ là khoảng 6 giờ; thích hợp là cả hai sẽ được dùng trong khoảng 5 giờ với nhau— trong trường hợp này, khoảng thời gian được chỉ định sẽ là khoảng 5 giờ; thích hợp là cả hai sẽ được dùng trong khoảng 4 giờ với nhau— trong trường hợp này, khoảng thời gian được chỉ định sẽ là khoảng 4 giờ; thích hợp là cả hai sẽ được dùng trong khoảng 3 giờ với nhau— trong trường hợp này, khoảng thời gian được chỉ định sẽ là khoảng 3 giờ; thích hợp là chúng sẽ được dùng trong khoảng 2 giờ với nhau— trong trường hợp này, khoảng thời gian được chỉ định sẽ là khoảng 2 giờ; thích hợp là cả hai sẽ được dùng

trong khoảng 1 giờ với nhau – trong trường hợp này, khoảng thời gian được chỉ định sẽ là khoảng 1 giờ. Như được sử dụng ở đây, dùng hợp chất A và hợp chất B tách biệt nhau trong khoảng thời gian nhỏ hơn khoảng 45 phút được xem là dùng đồng thời.

Thích hợp là, khi hỗn hợp theo sáng chế được dùng trong “khoảng thời gian được chỉ định”, các hợp chất này sẽ cùng được dùng trong “khoảng thời gian dùng”.

Thuật ngữ “khoảng thời gian dùng” và các từ có nguồn gốc từ từ này, như được sử dụng ở đây nghĩa là cả hai hợp chất theo sáng chế được dùng trong một số ngày liên tiếp được chỉ định.

Liên quan đến việc “khoảng thời gian được chỉ định”:

Thích hợp là, cả hai hợp chất sẽ được dùng trong khoảng thời gian được chỉ định trong ít nhất một ngày – trong trường hợp này, khoảng thời gian dùng sẽ là ít nhất một ngày; thích hợp là, trong khoảng thời gian điều trị, cả hai hợp chất sẽ được dùng trong khoảng thời gian được chỉ định trong ít nhất 3 ngày liên tiếp – trong trường hợp này, khoảng thời gian dùng sẽ ít nhất là 3 ngày; thích hợp là, trong khoảng thời gian điều trị, cả hai hợp chất sẽ được dùng trong khoảng thời gian được chỉ định trong ít nhất 5 ngày liên tiếp – trong trường hợp này, khoảng thời gian dùng sẽ ít nhất là 5 ngày; thích hợp là, trong khoảng thời gian điều trị, cả hai hợp chất sẽ được dùng trong khoảng thời gian được chỉ định trong ít nhất 7 ngày liên tiếp – trong trường hợp này, khoảng thời gian dùng sẽ ít nhất là 7 ngày; thích hợp là, trong khoảng thời gian điều trị, cả hai hợp chất sẽ được dùng trong khoảng thời gian được chỉ định trong ít nhất 14 ngày liên tiếp – trong trường hợp này, khoảng thời gian dùng sẽ ít nhất là 14 ngày; thích hợp là, trong khoảng thời gian điều trị, cả hai hợp chất sẽ được dùng trong khoảng thời gian được chỉ định trong ít nhất 30 ngày liên tiếp – trong trường hợp này, khoảng thời gian dùng sẽ ít nhất là 30 ngày.

Tiếp theo về dùng trong “khoảng thời gian được chỉ định”:

Thích hợp là, trong khoảng thời gian điều trị, hợp chất A và hợp chất B sẽ được dùng trong khoảng thời gian được chỉ định trong khoảng từ 1 đến 4 ngày trong khoảng thời gian 7 ngày, và trong các ngày còn lại của khoảng thời gian 7 ngày này sẽ chỉ dùng mình hợp chất A. Thích hợp là, quy trình 7 ngày này được lặp lại trong 2 chu kỳ hoặc trong 14 ngày; thích hợp là trong 4 chu kỳ hoặc 28 ngày; thích hợp là trong khoảng thời gian dùng liên tục.

Thích hợp là, trong khoảng thời gian điều trị, hợp chất A và hợp chất B sẽ được dùng trong khoảng thời gian được chỉ định trong khoảng từ 1 đến 4 ngày trong khoảng thời gian 7 ngày, và trong các ngày còn lại của khoảng thời gian 7 ngày này sẽ chỉ dùng mình hợp chất B. Thích hợp là, quy trình 7 ngày này được lặp lại trong 2 chu kỳ hoặc trong 14 ngày; thích hợp là trong 4 chu kỳ hoặc 28 ngày; thích hợp là trong khoảng thời gian dùng liên tục. Thích hợp là, hợp chất B được dùng trong các ngày liên tiếp trong khoảng thời gian 7 ngày. Thích hợp là, hợp chất B được dùng trong mô hình xen kẽ cách ngày trong mỗi khoảng thời gian 7 ngày.

Thích hợp là, trong khoảng thời gian điều trị, hợp chất A và hợp chất B sẽ được dùng trong khoảng thời gian được chỉ định trong 3 ngày trong khoảng thời gian 7 ngày, và trong các ngày còn lại của khoảng thời gian 7 ngày sẽ chỉ dùng mình hợp chất B. Thích hợp là, quy trình 7 ngày này được lặp lại trong 2 chu kỳ hoặc trong 14 ngày; thích hợp là trong 4 chu kỳ hoặc 28 ngày; thích hợp là trong khoảng thời gian dùng liên tục. Thích hợp là, hợp chất A sẽ được dùng 3 ngày liên tiếp trong khoảng thời gian 7 ngày.

Thích hợp là, trong khoảng thời gian điều trị, hợp chất A và hợp chất B sẽ được dùng trong khoảng thời gian được chỉ định trong 2 ngày trong khoảng thời gian 7 ngày, và trong các ngày còn lại của khoảng thời gian 7 ngày sẽ chỉ dùng mình hợp chất B. Thích hợp là, quy trình 7 ngày này được lặp lại trong 2 chu kỳ hoặc trong 14 ngày; thích hợp là trong 4 chu kỳ hoặc 28 ngày; thích hợp là trong khoảng thời gian dùng liên tục. Thích hợp là, hợp chất A sẽ được dùng 2 ngày liên tiếp trong khoảng thời gian 7 ngày.

Thích hợp là, trong khoảng thời gian điều trị, hợp chất A và hợp chất B sẽ được dùng trong khoảng thời gian được chỉ định trong 1 ngày trong khoảng thời gian 7 ngày, và trong các ngày còn lại của khoảng thời gian 7 ngày sẽ chỉ dùng mình hợp chất B. Thích hợp là, quy trình 7 ngày này được lặp lại trong 2 chu kỳ hoặc trong 14 ngày; thích hợp là trong 4 chu kỳ hoặc 28 ngày; thích hợp là trong khoảng thời gian dùng liên tục.

Thích hợp là, nếu các hợp chất không được dùng trong “khoảng thời gian được chỉ định”, chúng được dùng lần lượt. Thuật ngữ “dùng lần lượt”, và các từ có nguồn gốc có nguồn gốc từ từ này, như được sử dụng ở đây nghĩa là một trong hai hợp chất A

và hợp chất B được dùng trong hai hoặc nhiều ngày liên tiếp và hợp chất còn lại trong số hợp chất A và hợp chất B được dùng sau đó trong hai hoặc nhiều ngày liên tiếp. Ngoài ra, được dự tính ở đây là khoảng thời gian dùng dùng được chất được sử dụng giữa các lần dùng lần lượt một trong số hợp chất A và hợp chất B và hợp chất còn lại trong số hợp chất A và hợp chất B. Như được sử dụng ở đây, khoảng thời gian dùng dùng được chất là khoảng thời gian gồm các ngày sau khi dùng lần lượt một trong số hợp chất A và hợp chất B và trước khi dùng hợp chất còn lại trong số hợp chất A và hợp chất B trong lúc này cả hợp chất A và cả hợp chất B đều không được dùng. Thích hợp là, khoảng thời gian dùng dùng được chất sẽ là khoảng thời gian gồm các ngày được chọn từ: 1 ngày, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày, 7 ngày, 8 ngày, 9 ngày, 10 ngày, 11 ngày, 12 ngày, 13 ngày và 14 ngày.

Về việc dùng theo trình tự:

Thích hợp là, một trong số hợp chất A và hợp chất B được dùng trong khoảng từ 1 đến 30 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng tùy ý, sau đó dùng hợp chất còn lại trong số hợp chất A và hợp chất B trong khoảng từ 1 đến 30 ngày liên tiếp. Thích hợp là, một trong số hợp chất A và hợp chất B được dùng trong khoảng từ 2 đến 21 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng tùy ý, sau đó dùng hợp chất còn lại trong số hợp chất A và hợp chất B trong khoảng từ 2 đến 21 ngày liên tiếp. Thích hợp là, một trong số hợp chất A và hợp chất B được dùng trong khoảng từ 2 đến 14 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng trong khoảng từ 1 đến 14 ngày, sau đó dùng hợp chất còn lại trong số hợp chất A và hợp chất B trong khoảng từ 2 đến 14 ngày liên tiếp. Thích hợp là, một trong số hợp chất A và hợp chất B được dùng trong khoảng từ 3 đến 7 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng trong khoảng từ 3 đến 10 ngày, sau đó dùng hợp chất khác trong số hợp chất A và hợp chất B trong khoảng từ 3 đến 7 ngày liên tiếp.

Thích hợp là, theo trình tự trước hết dùng hợp chất B, sau đó nghỉ dùng tùy ý, sau đó dùng hợp chất A. Thích hợp là, hợp chất B được dùng trong khoảng từ 1 đến 21 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng tùy ý, sau đó dùng hợp chất A trong khoảng từ 1 đến 21 ngày liên tiếp. Thích hợp là, hợp chất B được dùng trong khoảng từ 3 đến 21 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng trong khoảng từ 1 đến 14 ngày, sau đó dùng hợp chất A trong khoảng từ 3 đến 21 ngày liên tiếp. Thích hợp là, hợp chất B được dùng trong khoảng từ 3 đến 21 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng trong khoảng từ 3 đến 14 ngày, sau đó dùng hợp chất A trong khoảng từ 3 đến 21 ngày liên tiếp. Thích hợp là, hợp

chất B được dùng trong 21 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng tùy ý, sau đó dùng hợp chất A trong 14 ngày liên tiếp. Thích hợp là, hợp chất B được dùng trong 14 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng trong khoảng từ 1 đến 14 ngày, sau đó dùng hợp chất A trong 14 ngày liên tiếp. Thích hợp là, hợp chất B được dùng trong 7 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng trong khoảng từ 3 đến 10 ngày, sau đó dùng hợp chất A trong 7 ngày liên tiếp. Thích hợp là, hợp chất B được dùng trong 3 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng trong khoảng từ 3 đến 14 ngày, sau đó dùng hợp chất A trong 7 ngày liên tiếp. Thích hợp là, hợp chất B được dùng trong 3 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng trong khoảng từ 3 đến 10 ngày, sau đó dùng hợp chất A trong 3 ngày liên tiếp.

Thích hợp là, trong trình tự này trước hết sẽ dùng hợp chất A, sau đó nghỉ dùng tùy ý, sau đó dùng hợp chất B. Thích hợp là, hợp chất A được dùng trong khoảng từ 1 đến 21 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng tùy ý, sau đó dùng hợp chất B trong khoảng từ 1 đến 21 ngày liên tiếp. Thích hợp là, hợp chất A được dùng trong khoảng từ 3 đến 21 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng trong khoảng từ 1 đến 14 ngày, sau đó dùng hợp chất B trong khoảng từ 3 đến 21 ngày liên tiếp. Thích hợp là, hợp chất A được dùng trong khoảng từ 3 đến 21 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng trong khoảng từ 3 đến 14 ngày, sau đó dùng hợp chất B trong khoảng từ 3 đến 21 ngày liên tiếp. Thích hợp là, hợp chất A được dùng trong 21 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng tùy ý, sau đó dùng hợp chất B trong 14 ngày liên tiếp. Thích hợp là, hợp chất A được dùng trong 14 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng trong khoảng từ 1 đến 14 ngày, sau đó dùng hợp chất B trong 14 ngày liên tiếp. Thích hợp là, hợp chất A được dùng trong 7 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng trong khoảng từ 3 đến 10 ngày, sau đó dùng hợp chất B trong 7 ngày liên tiếp. Thích hợp là, hợp chất A được dùng trong 3 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng trong khoảng từ 3 đến 14 ngày, sau đó dùng hợp chất B trong 7 ngày liên tiếp. Thích hợp là, hợp chất A được dùng trong 3 ngày liên tiếp, sau đó nghỉ dùng trong khoảng từ 3 đến 10 ngày, sau đó dùng hợp chất B trong 3 ngày liên tiếp.

Được hiểu rằng dùng trong “khoảng thời gian chỉ định” và dùng “lần lượt” có thể được theo sau đó sự phân liều lặp lại hoặc có thể sau đó quy trình phân liều xen kẽ, và dùng dùng được chất có thể thực hiện trước khi phân liều lặp lại hoặc quy trình phân liều xen kẽ.

Thích hợp là, khối lượng hợp chất A (dựa trên trọng lượng của khối lượng không tạo muối /không được solvat hóa) được dùng là một phần của hỗn hợp theo

sáng chế sẽ là khối lượng chọn lọc nằm trong khoảng từ 0,125mg đến khoảng 10mg; thích hợp là, khối lượng này sẽ được chọn nằm trong khoảng từ 0,25mg đến khoảng 9mg; thích hợp là, khối lượng này sẽ được chọn nằm trong khoảng từ 0,25mg đến khoảng 8mg; thích hợp là, khối lượng này sẽ được chọn nằm trong khoảng từ 0,5mg đến khoảng 8mg; thích hợp là, khối lượng này sẽ được chọn nằm trong khoảng từ 0,5mg đến khoảng 7mg; thích hợp là, khối lượng này sẽ được chọn nằm trong khoảng từ 1mg đến khoảng 7mg; thích hợp là, khối lượng này sẽ là khoảng 5mg. Do đó, khối lượng hợp chất A được dùng là một phần của hỗn hợp theo sáng chế sẽ là khối lượng chọn lọc nằm trong khoảng từ 0,125mg đến khoảng 10mg. Ví dụ, khối lượng hợp chất A được dùng là một phần của hỗn hợp theo sáng chế có thể là 0,125mg, 0,25mg, 0,5mg, 0,75mg, 1mg, 1,5mg, 2mg, 2,5mg, 3mg, 3,5mg, 4mg, 4,5mg, 5mg, 5,5mg, 6mg, 6,5mg, 7mg, 7,5mg, 8mg, 8,5mg, 9mg, 9,5mg, 10mg.

Thích hợp là, khối lượng hợp chất B (dựa trên trọng lượng của khối lượng không tạo muối /không được solvat hóa) được dùng là một phần của hỗn hợp theo sáng chế sẽ là khối lượng chọn lọc nằm trong khoảng từ 10mg đến khoảng 600mg. Thích hợp là, khối lượng này sẽ được chọn nằm trong khoảng từ 30mg đến khoảng 300mg; thích hợp là, khối lượng này sẽ được chọn nằm trong khoảng từ 30mg đến khoảng 280mg; thích hợp là, khối lượng này sẽ được chọn nằm trong khoảng từ 40mg đến khoảng 260mg; thích hợp là, khối lượng này sẽ được chọn nằm trong khoảng từ 60mg đến khoảng 240mg; thích hợp là, khối lượng này sẽ được chọn nằm trong khoảng từ 80mg đến khoảng 220mg; thích hợp là, khối lượng này sẽ được chọn nằm trong khoảng từ 90mg đến khoảng 210mg; thích hợp là, khối lượng này sẽ được chọn nằm trong khoảng từ 100mg đến khoảng 200mg, thích hợp là, khối lượng này sẽ được chọn nằm trong khoảng từ 110mg đến khoảng 190mg, thích hợp là, khối lượng này sẽ được chọn nằm trong khoảng từ 120mg đến khoảng 180mg, thích hợp là, khối lượng này sẽ được chọn nằm trong khoảng từ 130mg đến khoảng 170mg, thích hợp là, khối lượng này sẽ được chọn nằm trong khoảng từ 140mg đến khoảng 160mg, thích hợp là, lượng sẽ là 150mg. Do đó, khối lượng hợp chất B được dùng là một phần của hỗn hợp theo sáng chế sẽ là khối lượng chọn lọc nằm trong khoảng từ 10mg đến khoảng 300mg. Ví dụ, khối lượng hợp chất B được dùng là một phần của hỗn hợp theo sáng chế thích hợp được chọn từ 10mg, 20mg, 30mg, 40mg, 50mg, 60mg, 70mg, 80mg, 85mg, 90mg, 95mg, 100mg, 105mg, 110mg, 115mg, 120mg, 125mg, 130mg, 135mg,

140mg, 145mg, 150mg, 155mg, 160mg, 165mg, 170mg, 175mg, 180mg, 185mg, 190mg, 195mg, 200mg, 205mg, 210mg, 215mg, 220mg, 225mg, 230mg, 235mg, 240mg, 245mg, 250mg, 255mg, 260mg, 265mg, 270mg, 275mg, 280mg, 285mg, 290mg, 295mg và 300mg. Thích hợp là, khối lượng chọn lọc hợp chất B được dùng trong khoảng từ 1 đến 4 lần một ngày. Thích hợp là, khối lượng chọn lọc hợp chất B được dùng hai lần một ngày. Thích hợp là, hợp chất B được dùng với khối lượng 150mg hai lần một ngày. Thích hợp là, khối lượng chọn lọc hợp chất B được dùng một lần một ngày.

Như được sử dụng ở đây, tất cả các khối lượng chỉ định cho hợp chất A và hợp chất B được chỉ định là khối lượng của hợp chất tự do hoặc không tạo muối.

Phương pháp điều trị

Hỗn hợp theo sáng chế, được cho là có tính hữu ích trong các rối loạn trong đó sự ức chế MEK và/hoặc B-Raf là có lợi.

Do đó sáng chế đề xuất hỗn hợp theo sáng chế, để sử dụng trong chữa trị, cụ thể là trong điều trị các rối loạn trong đó sự ức chế hoạt tính MEK và/hoặc B-Raf là có lợi, đặc biệt là bệnh ung thư.

Khía cạnh nữa theo sáng chế đề xuất phương pháp điều trị rối loạn trong đó sự ức chế MEK và/hoặc B-Raf là có lợi, bao gồm dùng hỗn hợp theo sáng chế.

Khía cạnh nữa theo sáng chế đề xuất sử dụng hỗn hợp theo sáng chế để sản xuất được phẩm để điều trị rối loạn trong đó sự ức chế MEK và/hoặc B-Raf là có lợi.

Diễn hình là, rối loạn này là bệnh ung thư sao cho sự ức chế MEK và/hoặc B-Raf có tác dụng có lợi. Các ví dụ về bệnh ung thư thích hợp để điều trị bằng hỗn hợp theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, cả hai dạng nguyên phát và di căn ung thư đầu và cổ, ngực, phổi, ruột kết, buồng trứng, và tuyến tiền liệt. Thích hợp là, bệnh ung thư này được chọn từ: ung thư não (các u thần kinh đệm), u nguyên bào đệm, u tế bào hình sao, u nguyên bào đệm đa dạng, hội chứng Bannayan-Zonana, bệnh Cowden, bệnh Lhermitte-Duclos, vú, bệnh ung thư vú viêm, khối u Wilm, u liên kết Ewing, u liên kết cơ vân, u tế bào màng, u nguyên bào tủy, ruột kết, đầu và cổ, thận, phổi, gan, u hắc sắc tố, buồng trứng, tụy, tuyến tiền liệt, u liên kết ác tính, u liên kết xương ác tính,

khối u xương tủy bào khổng lồ, ung thư tuyến giáp, ung thư bạch cầu tế bào T nguyên bào lymphô, ung thư bạch cầu tủy bào mạn tính, Ung thư bạch cầu tế bào lymphô mạn tính, ung thư bạch cầu tế bào Hairy, ung thư bạch cầu nguyên bào lymphô cấp tính, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, AML, ung thư bạch cầu ưa bạch cầu trung tính mạn tính, ung thư bạch cầu tế bào T nguyên bào lymphô cấp tính, u tương bào, ung thư bạch cầu tế bào lớn mầm miễn dịch, ung thư bạch cầu tế bào Mantle, ung thư bạch huyết nguyên bào nhân khổng lồ đau tủy, chứng đau tủy, ung thư bạch cầu tiểu cầu mẹ cấp tính, ung thư bạch cầu tiền tủy bào, bệnh tăng sinh nguyên hồng cầu-nguyên tủy bào, u bạch huyết ác tính, u bạch huyết Hodgkins, u bạch huyết không phải Hodgkins, u bạch huyết tế bào T nguyên bào lymphô, u bạch huyết Burkitt, u bạch huyết nang, u nguyên bào thần kinh, ung thư bàng quang, ung thư niệu mạc, ung thư phổi, ung thư âm hộ, ung thư cổ, ung thư áo niêm mạc tử cung, ung thư thận, u trung biểu mô, ung thư thực quản, ung thư tuyến nước bọt, ung thư tế bào gan, ung thư dạ dày, ung thư mũi họng, ung thư má, ung thư miệng, khối u chất đệm dạ dày-ruột (GIST-gastrointestinal stromal tumor) và ung thư tinh hoàn.

Ngoài ra, các ví dụ về bệnh ung thư được điều trị bao gồm ung thư tuyến Barret; ung thư tuyến đường mật; bệnh ung thư vú; ung thư cổ; ung thư tuyến mật; các khối u hệ thần kinh trung ương bao gồm các khối u CNS nguyên phát như u nguyên bào đệm, u tế bào hình sao (ví dụ, u nguyên bào đệm đa dạng) và u tế bào màng, và các khối u CNS thứ phát (nghĩa là, là các khối u có nguồn gốc nằm ngoài hệ thần kinh trung ương di căn đến hệ thần kinh trung ương); bệnh ung thư ruột kết-trực tràng bao gồm ung thư tuyến ruột già; ung thư dạ dày; ung thư tuyến đầu và cổ bao gồm ung thư tuyến đầu và cổ tế bào vảy; các bệnh ung thư máu bao gồm ung thư bạch cầu và u bạch huyết như ung thư bạch cầu nguyên bào lymphô cấp tính, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính (AML), các hội chứng loạn sản tủy, ung thư bạch cầu tủy bào mạn tính, u bạch huyết Hodgkin, u bạch huyết không phải Hodgkin, ung thư bạch huyết nguyên bào nhân khổng lồ, chứng đau tủy và bệnh tăng sinh nguyên hồng cầu-nguyên tủy bào; u biểu mô tế bào gan; ung thư phổi bao gồm ung thư phổi tế bào nhỏ và ung thư phổi tế bào không nhỏ; ung thư buồng trứng; ung thư áo niêm mạc tử cung; ung thư tụy; u tuyến yên; ung thư tuyến tiền liệt; ung thư thận; u liên kết ác tính; ung thư da bao gồm u hắc sắc tố; và các bệnh ung thư tuyến giáp.

Thích hợp là, sáng chế đề cập đến phương pháp để điều trị hoặc làm thuyên giảm độ trầm trọng của bệnh ung thư được chọn từ: ung thư não (các u thần kinh đệm), u nguyên bào đệm, hội chứng Bannayan-Zonana, bệnh Cowden, bệnh Lhermitte-Duclos, vú, ruột kết, đầu và cổ, thận, phổi, gan, u hắc sắc tố, buồng trứng, tụy, tuyến tiền liệt, u liên kết ác tính và tuyến giáp.

Thích hợp là, sáng chế đề cập đến phương pháp để điều trị hoặc làm thuyên giảm độ trầm trọng của bệnh ung thư được chọn từ ung thư buồng trứng, vú, tụy và tuyến tiền liệt.

Hỗn hợp theo sáng chế có thể được sử dụng riêng rẽ hoặc kết hợp với một hoặc nhiều dược chất khác. Do đó, sáng chế đề xuất khía cạnh nữa là hỗn hợp nữa chứa hỗn hợp theo sáng chế cùng với dược chất hoặc các dược chất khác, các chế phẩm và các dược phẩm chứa hỗn hợp này và sử dụng hỗn hợp, chế phẩm và dược phẩm này trong điều trị, cụ thể là trong điều trị các bệnh dễ bị mắc ức chế MEK và/hoặc kinaza B.

Trong phương án này, hỗn hợp theo sáng chế có thể được sử dụng cùng với các phương pháp chữa trị khác để điều trị bệnh ung thư. Cụ thể là, trong điều trị chống khối u, liệu pháp kết hợp với các chất trị liệu miễn dịch, hormon, kháng thể khác cũng như điều trị bằng phẫu thuật và/hoặc phóng xạ ngoài các phương pháp được đề cập trên đây được dự tính. Do đó, các liệu pháp kết hợp theo sáng chế bao gồm dùng hợp chất A và hợp chất B cũng như sử dụng tùy ý các dược chất khác bao gồm các chất chống khối u khác. Sự kết hợp các chất này có thể được dùng cùng nhau hoặc tách biệt và, khi được dùng tách biệt, có thể dùng đồng thời hoặc theo trật tự bất kỳ, gần nhau và cách xa nhau.

Theo một phương án, dược phẩm chứa hợp chất A và hợp chất B, và tùy ý ít nhất một chất chống khối u bổ sung.

Như được chỉ định, lượng hiệu quả hợp chất A và hợp chất B để điều trị bệnh được thảo luận trên đây. Lượng hiệu quả các dược chất nữa để điều trị bệnh theo sáng chế sẽ phụ thuộc vào một số yếu tố bao gồm, ví dụ, độ tuổi và trọng lượng của động vật có vú, tình trạng bệnh rõ ràng cần điều trị, độ trầm trọng của tình trạng bệnh, bản chất của chế phẩm và đường dùng. Cuối cùng, lượng có hiệu quả điều trị của bệnh sẽ tùy thuộc vào dược sỹ hoặc bác sỹ thú y chăm sóc. Khoảng thời gian dùng tương đối sẽ được chọn để thu được hiệu quả chữa trị kết hợp mong muốn.

Theo một phương án, liệu pháp chống bệnh ung thư nữa là phẫu thuật và/hoặc liệu pháp phóng xạ.

Theo một phương án, liệu pháp chống bệnh ung thư nữa là ít nhất một chất chống khối u bổ sung.

Chất chống khối u bất kỳ mà có hoạt tính chống lại khối u dễ bị mắc đang được điều trị có thể được sử dụng trong hỗn hợp này. Các chất chống khối u điển hình hữu ích bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chất chống vi cấu trúc hình ống như diterpenoit và vinca alkaloid; các phức hệ kết hợp platin; các chất alkyl hóa như hạt cải nito, oxazaphosphorin, alkylsulfonat, nitrosoure, và triazen; các chất kháng sinh như anthracyclin, actinomycin và bleomycin; các chất ức chế topoisomeraza II như epipodophyllotoxin; các chất chống chuyển hóa như purin và các chất tương tự pyrimidin và các hợp chất chống folat; các chất ức chế topoisomeraza I như camptothecin; các hormon và các chất tương tự hormon; các chất ức chế con đường truyền tín hiệu; các chất ức chế tạo mạch không phải tyrosin thụ thể; các chất trị liệu miễn dịch; các chất tiền gây chết tế bào theo chương trình; và các chất ức chế truyền tín hiệu chu trình tế bào.

Các chất chống vi cấu trúc hình ống hoặc chống gián phân: Các chất chống vi cấu trúc hình ống hoặc chống gián phân là các chất đặc hiệu chu trình có hoạt tính kháng lại các vi cấu trúc hình ống của các tế bào khối u trong pha M hoặc pha gián phân của chu trình tế bào. Các ví dụ về các chất chống vi cấu trúc hình ống bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, diterpenoit và vinca alkaloid.

Diterpenoit, có nguồn gốc từ các nguồn tự nhiên, là các chất chống ung thư đặc hiệu pha hoạt động ở các pha G₂/M của chu trình tế bào. Được cho rằng các diterpenoit làm ổn định dưới đơn vị β -tubulin của các vi cấu trúc hình ống, bằng cách gắn kết với protein này. Sự không quân tụ protein này xảy ra rồi thì sau đó bị ức chế với quá trình nguyên phân bị ngừng và tế bào chết sau đó. Các ví dụ về diterpenoit bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, paclitaxel và chất tương tự docetaxel của nó.

Paclitaxel, 5 β ,20-epoxy-1,2 α ,4,7 β ,10 β ,13 α -hexa-hydroxytax-11-en-9-on 4,10-diaxetat 2-benzoat 13-este có (2R,3S)-N-benzoyl-3-phenylisoserin; là sản phẩm diterpen tự nhiên được phân tách từ cây thủy tùng Pacific *Taxus brevifolia* và có trên thị trường là dung dịch có thể tiêm TAXOL®. Nó là thành viên của họ taxan gồm các

terpen. Paclitaxel đã được chứng nhận để sử dụng lâm sàng trong điều trị ung thư buồng trứng dai dẳng ở Hoa Kỳ (Markman *et al.*, Yale Journal of Biology và Medicine, 64:583, 1991; McGuire *et al.*, Ann. Intern. Med., 111:273, 1989) và để điều trị bệnh ung thư vú (Holmes *et al.*, J. Nat. Cancer Inst., 83:1797, 1991.) Nó là chất tiềm năng để điều trị các khối u trong da (Einzig *et al.*, Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 20:46) và ung thư tuyến đầu và cổ (Forastire *et al.*, Sem. Oncol., 20:56, 1990). Hợp chất này cũng thể hiện tiềm năng để điều trị bệnh thận đa u nang (Woo *et al.*, Nature, 368:750, 1994), ung thư phổi và bệnh sốt rét. Điều trị cho người bệnh bằng paclitaxel dẫn đến kìm hãm tủy xương (các dòng đa tể bào, Ignoff, R.J. *et al.*, Cancer Chemotherapy Pocket Guide, 1998) liên quan đến khoảng thời gian phân liều trên nồng độ ngưỡng (50nM) (Kearns, C.M. *et al.*, Seminars in Oncology, 3(6) p.16-23, 1995).

Docetaxel, (2R,3S)- N-carboxy-3-phenylisoserin, N-*tert*-butyl este, 13-este có 5 β -20-epoxy-1,2 α ,4,7 β ,10 β ,13 α -hexahydroxytax-11-en-9-on 4-axetat 2-benzoat, trihydrat; sẵn có trên thị trường là dung dịch tiêm là TAXOTERE®. Docetaxel được chỉ định để điều trị bệnh ung thư vú. Docetaxel là dẫn xuất bán tổng hợp của paclitaxel *q.v.*, được điều chế sử dụng tiền chất tự nhiên, 10-deaxetyl-baccatin III, được chiết từ lá kim của cây thủy tùng châu Âu.

Vinca alkaloid là chất chống khối u đặc hiệu pha có nguồn gốc từ cây dừa cạn. Vinca alkaloid hoạt động ở pha M (nguyên phân) của chu trình tế bào bằng cách gắn kết đặc hiệu với tubulin. Do đó, phân tử tubulin bị gắn kết không có khả năng polyme hóa thành các vi cấu trúc hình ống. Nguyên phân được cho là bị ngừng trong trung kỳ với tế bào chết sau đó. Các ví dụ về vinca alkaloid bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, vinblastin, vincristin, và vinorelbin.

Vinblastin, vincalukoblastin sulfat, có trên thị trường là VELBAN® là dung dịch tiêm. Mặc dù, nó có chỉ định có thể là liệu pháp thứ hai của nhiều khối u rắn khác nhau, nó trước hết được chỉ định trong điều trị ung thư tinh hoàn và các u lympho khác nhau bao gồm bệnh Hodgkin; và u lymphô tế bào lymphô và mô bào. Ức chế tủy bào tác dụng phụ giới hạn liều dùng của vinblastin.

Vincristin, vincalukoblastin, 22-oxo-, sulfat, có trên thị trường là ONCOVIN® là dung dịch tiêm. Vincristin được chỉ định để điều trị bệnh cầu cấp tính và cũng được nhận thấy để sử dụng trong chế độ điều trị u bạch huyết ác tính Hodgkin và không phải

Hodgkin. Rụng lông tóc và các tác dụng thần kinh là tác dụng phụ thông thường nhất của vincristin và ức chế tủy bào và các tác dụng viêm niêm mạc dạ dày ruột xảy ra ít hơn.

Vinorelbin, 3',4'-didehydro -4'-deoxy-C'-norvincal leukoblastin [R-(R*,R*)-2,3-dihydroxybutanedioat (1:2)(muối)], có trên thị trường là dung dịch tiêm vinorelbin tartrat (NAVELBINE®), là vinca alkaloit bán tổng hợp. Vinorelbin được chỉ định là đơn chất hoặc kết hợp với các chất trị liệu miễn dịch khác, như cisplatin, trong điều trị nhiều khối u rắn khác nhau, cụ thể là ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư vú tiến triển, và ung thư tuyến tiền liệt kháng lại hormon. Ức chế tủy bào tác dụng phụ giới hạn liều dùng thông thường nhất của vinorelbin.

Các phức hệ kết hợp platin: Các phức hệ kết hợp platin là các chất kháng ung thư không đặc hiệu pha, tương tác với ADN. Các phức hệ platin xâm nhập vào cá tế bào khối u, trải qua quá trình hydrat hóa và tạo thành các liên kết chéo bên trong và giữa các sợi với ADN gây ra các tác dụng sinh học bất lợi cho khối u. Các ví dụ về các phức hệ kết hợp platin bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, oxaliplatin, cisplatin và carboplatin.

Cisplatin, cis-diamminedicloplatin, có trên thị trường là PLATINOL® là dung dịch tiêm. Cisplatin được chỉ định ban đầu trong điều trị ung thư tinh hoàn và buồng trứng di căn và ung thư bàng quang tiến triển.

Carboplatin, platin, diammin [1,1-xyclobutan-dicarboxylat(2-)-O,O'], có trên thị trường là PARAPLATIN® là dung dịch tiêm. Carboplatin được chỉ định ban đầu trong điều trị ban đầu và hàng hai ung thư tuyến buồng trứng tiến triển.

Các chất alkyl hóa: Các chất alkyl hóa là các chất kháng khối u không đặc hiệu pha và các chất có ái lực với điện tử mạnh. Điển hình là, các chất alkyl hóa tạo thành các liên kết đồng hóa trị, bằng cách alkyl hóa, với ADN thông qua các gốc ái nhân của phân tử ADN như các nhóm phosphat, amin, sulfhydryl, hydroxyl, carboxyl, và imidazol. Sự alkyl hóa này phá vỡ chức năng của axit nucleic dẫn đến chết tế bào. Các ví dụ về các chất alkyl hóa bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, hạt cải nitơ như cyclophosphamid, melphalan, và chlorambuxil; alkyl sulfonat như busulfan; nitrosoureas như carmustin; và triazen như dacarbazin.

Xyclophosphamit, 2-[bis(2-cloetyl)amin]tetrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorin 2-oxit monohydrat, có trên thị trường là dung dịch tiêm hoặc viên nén là CYTOXAN®. Cyclophosphamit được chỉ định là đơn chất hoặc kết hợp với các chất trị liệu miễn dịch khác, trong điều trị u bạch huyết ác tính chứng đau tủy, và bệnh bạch cầu.

Melphalan, 4-[bis(2-cloetyl)amin]-L-phenylalanin, có trên thị trường là dung dịch tiêm hoặc viên nén là ALKERAN®. Melphalan được chỉ định để điều trị tạm thời chứng đau tủy và u biểu mô buồng trứng biểu mô không thể cắt bỏ. Sự kìm hãm tủy xương là liều phổ biến hạn chế tác dụng phụ liều dùng thông thường nhất của melphalan.

Chlorambuxil, axit 4-[bis(2-cloetyl)amin]benzenbutanoic, có trên thị trường là viên nén LEUKERAN®. Chlorambuxil được chỉ định để điều trị tạm thời bệnh bạch cầu bạch huyết mạn tính, và u bạch huyết ác tính như u liên kết lympho ác tính, u bạch huyết nang không lồ, và bệnh Hodgkin.

Busulfan, 1,4-butanediol dimetansulfonat, có trên thị trường là MYLERAN® TABLETS. Busulfan được chỉ định để điều trị tạm thời ung thư bạch cầu tủy bào mạn tính.

Carmustin, 1,3-[bis(2-cloetyl)-1-nitroso]urea, có trên thị trường là các lọ nhỏ chứa nguyên liệu đông khô như BiCNU®. Carmustin được chỉ định để điều trị tạm thời là đơn chất hoặc kết hợp với các chất khác các khối u não, chứng đau tủy, bệnh Hodgkin, và u bạch huyết không phải Hodgkins.

Dacarbazin, 5-(3,3-dimetyl-1-triazeno)-imidazol-4-carboxamit, có trên thị trường là các lọ nhỏ chứa nguyên liệu là DTIC-Dome®. Dacarbazin được chỉ định để điều trị u hắc sắc tố ác tính di căn và kết hợp với các chất khác cho điều trị hàng thứ hai bệnh Hodgkin.

Các chất kháng sinh chống khối u: Các chất kháng sinh chống khối u là các chất không đặc hiệu pha, gắn kết hoặc xen với ADN. Thường là, hoạt động này dẫn đến các phức hệ ADN ổn định hoặc phá vỡ sợi, mà phá vỡ chức năng bình thường của các axit nucleic dẫn đến chết tế bào. Các ví dụ về các chất kháng sinh chống khối u bao gồm,

nhưng không chỉ giới hạn ở, actinomycin như dactinomycin, anthracycline như daunorubicin và doxorubicin; và bleomycin.

Dactinomycin, cũng được biết là Actinomycin D, có trên thị trường ở dạng thuốc tiêm là COSMEGEN®. Dactinomycin được chỉ định để điều trị khối u Wilm và u liên kết cơ vân ác tính.

Daunorubicin, (8S-cis-)-8-acetyl-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxy- α -L-lyxohexopyranosyl)oxy]-7,8,9,10-tetrahydro-6,8,11-trihydroxy-1-methoxy-5,12 naphthacenedione hydrochloride, có trên thị trường là dạng liposome tiêm là DAUNOXOME® hoặc như là dạng tiêm là CERUBIDINE®. Daunorubicin được chỉ định để làm thuyên giảm trong điều trị ung thư bạch cầu không phải lympho bào cấp tính và u liên kết ác tính Kaposi liên quan đến HIV tiến triển.

Doxorubicin, (8S, 10S)-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxy- α -L-lyxohexopyranosyl)oxy]-8-glycoloyl, 7,8,9,10-tetrahydro-6,8,11-trihydroxy-1-methoxy-5,12 naphthacenedione hydrochloride, có trên thị trường là dạng tiêm là RUBEX® or ADRIAMYCIN RDF®. Doxorubicin được chỉ định ban đầu để điều trị ung thư bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính và bệnh bạch cầu nguyên tủy bào cấp tính, nhưng cũng là thành phần hữu ích trong điều trị một số khối u rắn và các u bạch huyết.

Bleomycin, hỗn hợp các chất kháng sinh glycopeptide gây độc tế bào được phân tách từ chủng *Streptomyces verticillus*, có trên thị trường là BLENOXANE®. Bleomycin được chỉ định là điều trị tạm thời là đơn chất hoặc kết hợp với chất khác, ung thư tuyến tế bào vảy, các u bạch huyết, và ung thư tuyến tinh hoàn.

Các chất ức chế topoisomerase II: Các chất ức chế topoisomerase II bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, epipodophyllotoxin.

Epipodophyllotoxin là chất chống khối u đặc hiệu pha có nguồn gốc từ cây podophyllin. Epipodophyllotoxin thường ảnh hưởng đến các tế bào trong các pha S và G₂ của chu trình tế bào bằng cách tạo thành phức hệ bậc ba với topoisomerase II và ADN gây ra sự phá vỡ sợi ADN. Các sự phá vỡ sợi này tích lũy và gây chết tế bào sau đó. Các ví dụ về epipodophyllotoxin bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, etoposide và teniposide.

Etoposit, 4'-demetyl-epipodophyllotoxin 9[4,6-0-(R)-etyliden- β -D-glucopyranosit], có trên thị trường là dung dịch tiêm hoặc viên nang là VePESID® và được biết thông thường là VP-16. Etoposit được chỉ định là đơn chất hoặc kết hợp với các chất trị liệu miễn dịch khác trong điều trị ung thư tinh hoàn và phổi tế bào không nhỏ.

Teniposit, 4'-demetyl-epipodophyllotoxin 9[4,6-0-(R)-thenyliden- β -D-glucopyranosit], có trên thị trường là dung dịch tiêm là VUMON® và được biết thông thường là VM-26. Teniposit được chỉ định là đơn chất hoặc kết hợp với các chất trị liệu miễn dịch khác trong điều trị bệnh bạch cầu cấp tính ở trẻ em.

Các chất chống chuyển hóa khối u: Các chất chống chuyển hóa khối u là các chất chống khối u đặc hiệu pha mà hoạt động ở pha S (tổng hợp ADN) của chu trình tế bào bằng cách ức chế sự tổng hợp ADN hoặc bằng cách ức chế sự tổng hợp bazơ purin hoặc pyrimidin và nhờ đó làm hạn chế sự tổng hợp ADN. Do đó, pha S không diễn ra và tế bào chết sau đó. Các ví dụ về chất kháng khối u chống chuyển hóa bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, flouraxil, methotrexat, xytarabin, mecaptopurin, thioguanin, và gemcitabin.

5-flouraxil, 5-flo-2,4- (1H,3H) pyrimidindion, có trên thị trường là flouraxil. Dùng 5-flouraxil dẫn đến ức chế sự tổng hợp thymidylat và cũng được kết hợp vào trong cả hai ARN và ADN. Kết quả là thường dẫn đến chết tế bào. 5-flouraxil được chỉ định là đơn chất hoặc kết hợp với các chất trị liệu miễn dịch khác trong điều trị ung thư tuyến vú, ruột kết, trực tràng, dạ dày và tụy. Các chất tương tự flopyrimidin khác bao gồm 5-flo deoxyuridin (floxuridin) và 5-flodeoxyuridin monophosphat.

Xytarabin, 4-amino-1- β -D-arabinofuranosyl-2 (1H)-pyrimidinon, có trên thị trường là CYTOSAR-U® và được biết thông thường là Ara-C. Được cho rằng xytarabin thể hiện tính đặc hiệu pha tế bào ở pha S bằng cách ức chế sự kéo dài chuỗi ADN bằng cách kết hợp xytarabin đầu tận cùng vào trong chuỗi ADN đang kéo dài. Xytarabin được chỉ định là đơn chất hoặc kết hợp với các chất trị liệu miễn dịch khác trong điều trị bệnh bạch cầu cấp tính. Các chất tương tự xytidin khác bao gồm 5-azaxytidin và 2',2'-diflodeoxyxytidin (gemxitabin).

Mercaptopurin, 1,7-dihydro-6H-purin-6-thion monohydrat, có trên thị trường là PURINETHOL®. Mercaptopurin thể hiện tính đặc hiệu pha tế bào ở pha S bằng cách

ức chế sự tổng hợp ADN bằng cơ chế còn chưa đặc hiệu. Mercaptopurin được chỉ định là đơn chất hoặc kết hợp với các chất trị liệu miễn dịch khác trong điều trị bệnh bạch cầu cấp tính. Chất tương tự mercaptopurin là azathioprin.

Thioguanin, 2-amino-1,7-dihydro-6H-purin-6-thion, có trên thị trường là TABLOID®. Thioguanin thể hiện tính đặc hiệu pha tế bào ở pha S bằng cách ức chế sự tổng hợp ADN bằng cơ chế còn chưa đặc hiệu. Thioguanin được chỉ định là đơn chất hoặc kết hợp với các chất trị liệu miễn dịch khác trong điều trị bệnh bạch cầu cấp tính. Các chất tương tự purin khác bao gồm pentostatin, erythrohydroxynonyladenine, fludarabin phosphat, và cladribin.

Gemxitabin, 2'-deoxy-2', 2'-difloxytidin monohydroclorua (chất đồng phân β), có trên thị trường là GEMZAR®. Gemxitabin thể hiện tính đặc hiệu pha tế bào ở pha S và bằng cách phong bế sự tiến triển của tế bào thông qua hàng rào G1/S. Gemxitabin được chỉ định kết hợp với xisplatin trong điều trị khu trú ung thư phổi tế bào không nhỏ tiến triển và một mình trong điều trị khu trú ung thư tụy tiến triển.

Methotrexat, axit N-[4[(2,4-diamin-6-pteridinyl) metyl]metylamin] benzoyl]-L-glutamic, có trên thị trường là methotrexat natri. Methotrexat thể hiện các tác dụng pha tế bào cụ thể là ở pha S bằng cách ức chế sự tổng hợp ADN, sửa chữa và/hoặc sao chép thông qua sự ức chế axit dihydrofolic reductaza mà cần cho sự tổng hợp các nucleotit purin và thymidylat. Methotrexat được chỉ định là đơn chất hoặc kết hợp với các chất trị liệu miễn dịch khác trong điều trị ung thư nhau, bệnh bạch cầu màng não, u bạch huyết không phải Hodgkin, và u biểu mô vú, đầu, cổ, buồng trứng và bàng quang.

Các chất ức chế topoisomeraza I: Camptothecin, bao gồm, camptothecin và các dẫn xuất camptothecin là sẵn có hoặc đang được phát triển là các chất ức chế Topoisomeraza I. Hoạt tính gây độc tế bào của camptothecin được cho là được liên quan đến hoạt tính ức chế topoisomeraza I của nó. Các ví dụ về camptothecin bao gồm, nhưng không bị giới hạn đến irinotecan, topotecan, và các dạng quang học khác nhau của 7-(4-methylpiperazino-metylen)-10,11-etylendioxy-20-camptothecin được mô tả dưới đây.

Irinotecan HCl, (4S)-4,11-dietyl-4-hydroxy-9-[(4-piperidinopiperidino) carbonyloxy]-1H-pyrano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-3,14(4H,12H)-dion hydroclorua, có trên thị trường là dung dịch tiêm CAMPTOSAR®. Irinotecan là dẫn

xuất của camptothecin mà gắn kết, cùng với sản phẩm chuyển hóa hoạt tính của nó SN-38, với phức hệ topoisomeraza I – ADN. Sự gây độc tế bào được cho là xảy ra do kết quả của sự phá vỡ sợi đôi không thể sửa chữa được gây ra bởi sự tương tác của topoisomeraza I : ADN : irinotecan hoặc phức hệ bậc ba SN-38 với các enzym sao chép. Irinotecan được chỉ định để điều trị ung thư di căn ruột kết hoặc trực tràng.

Topotecan HCl, (S)-10-[(dimethylamin)metyl]-4-etyl-4,9-dihydroxy-1H-pyrano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-3,14-(4H,12H)-dion monohydroclorua, có trên thị trường là dung dịch tiêm HYCAMTIN®. Topotecan là dẫn xuất của camptothecin gắn kết với phức hệ topoisomeraza I – ADN và ngăn ngừa sự nối lại các sự phá vỡ sợi đơn gây ra bởi Topoisomeraza I đáp ứng với sợi xoắn của phân tử ADN. Topotecan được chỉ định cho điều trị hàng hai ung thư tuyến di căn ung thư phổi tế bào nhỏ và buồng trứng.

Hormon và các chất tương tự hormon: Hormon và các chất tương tự hormon là các hợp chất hữu dụng để điều trị các bệnh ung thư trong đó có mối quan hệ giữa (các) hormon và sự phát triển và/hoặc thiếu phát triển của bệnh ung thư này. Các ví dụ về các hormon và các chất tương tự hormon hữu ích trong điều trị bệnh ung thư bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, adrenocorticosteroid như prednison và prednisolon là hữu ích trong điều trị u bạch huyết ác tính và bệnh bạch cầu cấp tính ở trẻ em; aminoglutethimide và các chất ức chế aromataza khác như anastrozol, letrozol, vorazol, và exemestan hữu ích trong điều trị ung thư tuyến vú tuyến thượng thận và ung thư biểu mô vú phụ thuộc hormon chứa các thụ thể estrogen; progestin như megestrol axetat hữu ích trong điều trị bệnh ung thư vú và ung thư tuyến áo niêm mạc tử cung phụ thuộc hormon; estrogen, androgen, và kháng-androgen như flutamide, nilutamide, bicalutamide, xyproteron axetat và 5 α -reductaza như finasterit và dutasterit, hữu ích trong điều trị ung thư tuyến tiền liệt và chứng phì đại tuyến tiền liệt lành tính; kháng-estrogen như tamoxifen, toremifen, raloxifen, droloxifen, idoxifen, cũng như các chất điều biến thụ thể estrogen chọn lọc (selective estrogen receptor modulator-SERM) như các chất được mô tả trong Patent Mỹ No. 5,681,835, 5,877,219, và 6,207,716, hiệu quả trong điều trị ung thư biểu mô vú phụ thuộc hormon và các bệnh ung thư dễ bị mắc khác; và hormon giải phóng gonadotropin (gonadotropin-releasing hormone-GnRH) và các chất tương tự của nó mà kích thích sự giải phóng hormone thể vàng-LH (leutinizing hormone-LH) và/hoặc hormon kích thích nang (follicle

stimulating hormone-FSH) để điều trị ung thư tuyến tiền liệt, ví dụ, các chất chủ vận LHRH và các chất đối kháng như goserelin axetat và luproliet.

Các chất ức chế con đường truyền tín hiệu: Các chất ức chế con đường truyền tín hiệu là các chất ức chế mà phong bế hoặc ức chế quá trình hóa học gây ra sự thay đổi nội bào. Như được sử dụng ở đây sự thay đổi này là sự tăng sinh hoặc biệt hóa tế bào. Các chất ức chế truyền tín hiệu hiệu quả theo sáng chế bao gồm các chất ức chế thụ thể tyrosin kinaza, thụ thể không phải tyrosin kinaza, các chất phong bế khu vực SH2/SH3, serin/threonin kinaza, phosphatidyl inositol-3 kinaza, tín hiệu myo-inositol, và các gen ung thư Ras.

Một vài protein tyrosin kinaza xúc tác sự phosphoryl hóa các gốc tyrosyl đặc hiệu trong nhiều protein khác nhau tham gia vào sự điều hòa sự sinh trưởng tế bào. Các protein tyrosin kinaza này có thể được phân loại rộng là thụ thể kinaza hoặc không thụ thể không phải kinaza.

Thụ thể tyrosin kinaza là protein xuyên màng có miền gắn kết phối tử ngoại bào, khu vực vận chuyển qua màng, và khu vực tyrosin kinaza. Thụ thể tyrosin kinaza tham gia vào điều hòa sự sinh trưởng tế bào và thường được gọi là các thụ thể yếu tố sinh trưởng. Sự hoạt hóa không thích hợp hoặc không kiểm soát được nhiều trong số các kinaza này, nghĩa là hoạt tính thụ thể yếu tố sinh trưởng kinaza bất thường, ví dụ do sự biểu hiện quá mức hoặc đột biến đã cho thấy dẫn đến sự sinh trưởng tế bào không được kiểm soát. Do đó, hoạt tính bất thường của các kinaza này là có liên quan đến sự sinh trưởng mô ác tính. Do đó, các chất ức chế các kinaza này có thể cung cấp các phương pháp điều trị bệnh ung thư. Các thụ thể yếu tố sinh trưởng bao gồm, ví dụ, thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì (epidermal growth factor receptor-EGFr), thụ thể yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc tiểu cầu (platelet derived growth factor receptor-PDGFr), erbB2, erbB4, ret, thụ thể yếu tố sinh trưởng nội mô mạch (vascular endothelial growth factor receptor-VEGFr), tyrosin kinaza giống globulin miễn dịch và miền tương đồng yếu tố sinh trưởng biểu bì (TIE-2), thụ thể yếu tố tăng trưởng insulin (insulin growth factor-I-IGFI), yếu tố kích thích khuẩn lạc đại thực bào (cfms), BTK, ckit, cmet, các thụ thể yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi (fibroblast growth factor-FGF), các thụ thể Trk (TrkA, TrkB, và TrkC), các thụ thể ephrin (eph), và tiền gen gây ung thư RET. Một số chất ức chế các thụ thể tăng trưởng là đang được phát triển và bao gồm các chất đối kháng phối tử, các kháng thể, các chất ức chế tyrosin

kinaza và các oligonucleotit đối nghĩa. Các thụ thể yếu tố tăng trưởng và các chất ức chế chức năng thụ thể yếu tố tăng trưởng được mô tả, ví dụ, trong Kath, John C., *Exp. Opin. Ther. Patents* (2000) 10(6):803-818; Shawver *et al.*, *DDT* Vol 2, No. 2 February 1997; và Loftis, F. J. *et al.*, "Growth factor receptors as targets", *New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy*, ed. Workman, Paul và Kerr, David, CRC press 1994, London.

Các tyrosin kinaza, mà không phải là các thụ thể yếu tố tăng trưởng kinaza được gọi là thụ thể không phải tyrosin kinaza. Tyrosin không phải thụ thể kinaza hữu dụng trong sáng chế là các đích hoặc là các đích tiềm năng của các dược chất chống ung thư, bao gồm cSrc, Lck, Fyn, Yes, Jak, cAbl, FAK (Focal adhesion kinase-kinaza bám dính tiêu điểm), Brutons tyrosin kinaza, và Bcr-Abl. Các kinaza không thụ thể này và các chất ức chế chức năng của tyrosin không phải thụ thể kinaza được mô tả trong Sinh, S. và Corey, S.J., (1999) *Journal of Hematotherapy và Stem Cell Research* 8 (5): 465 – 80; và Bolen, J.B., Brugge, J.S., (1997) *Annual review of Immunology*. 15: 371-404.

Các chất phong bế miền SH2/SH3 là các chất phá vỡ sự gắn kết miền SH2 hoặc SH3 trong nhiều enzym khác nhau hoặc các protein nổi bao gồm, dưới đơn vị PI3-K p85, các kinaza họ Src, các phân tử chuyển (Shc, Crk, Nck, Grb2) và Ras-GAP. Các khu vực SH2/SH3 là các đích cho các dược chất chống khối u như được thảo luận trong Smithgall, T.E. (1995), *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 34(3) 125-32.

Các chất ức chế Serin/Threonin Kinaza bao gồm các chất phong bế chuỗi MAP kinaza bao gồm các chất phong bế Raf kinaza (rafk), kinaza điều hòa ngoại bào hoặc điều hòa gián phân (Mitogen or Extracellular Regulated Kinase-MEK), và các kinaza điều hòa ngoại bào (Extracellular Regulated Kinase-ERK); và các chất phong bế thành viên họ Protein kinaza C bao gồm các chất phong bế các PKC (alpha, beta, gamma, epsilon, mu, lambda, iota, zeta). Họ Ikb kinaza (IKKa, IKKb), họ PKB kinaza, các thành viên họ akt kinaza, và thụ thể TGF beta kinaza. Serin/Threonin kinaza này và các chất ức chế của nó được mô tả trong Yamamoto, T., Taya, S., Kaibuchi, K., (1999), *Journal of Biochemistry*. 126 (5) 799-803; Brodt, P, Samani, A., và Navab, R. (2000), *Biochemical Pharmacology*, 60. 1101-1107; Massague, J., Weis-Garcia, F. (1996) *Cancer Surveys*. 27:41-64; Philip, P.A., và Harris, A.L. (1995), *Cancer*

Treatment và Research. 78: 3-27, Lackey, K. *et al.*, Bioorganic và Medicinal Chemistry Letters, (10), 2000, 223-226; U.S. Patent No. 6,268,391; và Martinez-Iacaci, L., *et al.*, Int. J. Cancer (2000), 88(1), 44-52.

Các chất ức chế thành viên họ Phosphotidyl inositol-3 Kinaza bao gồm các chất phong bế PI3-kinaza, ATM, ADN-PK, và Ku là cũng hữu dụng theo sáng chế. Các kinaza này được thảo luận trong Abraham, R.T. (1996), Current Opinion in Immunology. 8 (3) 412-8; Canman, C.E., Lim, D.S. (1998), Oncogene 17 (25) 3301-3308; Jackson, S.P. (1997), International Journal of Biochemistry và Cell Biology. 29 (7):935-8; và Zhong, H. *et al.*, Cancer res, (2000) 60(6), 1541-1545.

Cũng hữu dụng theo sáng chế là các chất ức chế tín hiệu Myo-inositol như các chất phong bế phospholipaza C và các chất tương tự Myo-inositol. Các chất ức chế tín hiệu này được mô tả trong Powis, G., và Kozikowski A., (1994) New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy ed., Paul Workman và David Kerr, CRC press 1994, London.

Nhóm các chất ức chế con đường truyền tín hiệu khác là các chất ức chế của gen gây ung thư Ras. Các chất ức chế này bao gồm các chất ức chế farnesyltransferaza, geranyl-geranyl transferaza, và CAAX proteaza cũng như các oligonucleotit đối nghĩa, các ribozym và liệu pháp miễn dịch. Các chất ức chế này đã cho thấy chặn sự hoạt hóa ras trong các tế bào chứa ras đột biến kiểu đại, nhờ đó đóng vai trò làm các chất chống tăng sinh. Sự ức chế gen gây ung thư Ras được thảo luận trong Scharovsky, O.G., Rozados, V.R., Gervasoni, S.I. Matar, P. (2000), Journal of Biomedical Science. 7(4) 292-8; Ashby, M.N. (1998), Current Opinion in Lipidology. 9 (2) 99 – 102; và BioChim. Biophys. Acta, (1989) 1423(3):19-30.

Như được thảo luận trên đây, các chất đối kháng kháng thể đối với sự gắn kết phối tử của thụ thể kinaza có thể cũng đóng vai trò làm các chất ức chế truyền tín hiệu. Nhóm gồm các chất ức chế con đường truyền tín hiệu này bao gồm việc sử dụng các kháng thể được làm cho giống người đối với miền gắn kết phối tử ngoại bào của thụ thể tyrosin kinaza. Ví dụ Imclone C225 kháng thể đặc hiệu EGFR (xem Green, M.C. *et al.*, Monoclonal Antibody Therapy for Solid Tumors, Cancer Treat. Rev., (2000), 26(4), 269-286); kháng thể erbB2 Herceptin ® (xem Tyrosin Kinase Signalling in Breast cancer:erbB Family Receptor Tyrosin Kinases, Breast cancer Res., 2000, 2(3),

176-183); và kháng thể đặc hiệu 2CB VEGFR2 (xem Brekken, R.A. *et al.*, Selective Inhibition of VEGFR2 Activity by a monoclonal Anti-VEGF antibody blocks tumor growth in mice, Cancer Res. (2000) 60, 5117-5124).

Các chất chống tạo mạch: Các chất chống tạo mạch bao gồm các chất ức chế sự hình thành mạch thụ thể MEK có thể cũng hữu dụng. Các chất chống tạo mạch như các chất ức chế các tác dụng của các yếu tố sinh trưởng nội mô mạch, (ví dụ kháng thể kháng yếu tố sinh trưởng tế bào nội mô mạch bevacizumab [Avastin™], và các hợp chất hoạt động bằng các cơ chế khác (ví dụ linomit, các chất ức chế chức năng integrin $\alpha v \beta 3$, endostatin và angiostatin);

Các chất trị liệu miễn dịch: Các chất được sử dụng trong liệu pháp trị liệu miễn dịch có thể cũng hữu dụng khi kết hợp với các hợp chất có công thức (I). Các phương thức liệu pháp miễn dịch, bao gồm ví dụ các phương pháp *ex-vivo* và *in-vivo* để gia tăng tính sinh miễn dịch của các tế bào khối u người bệnh, như chuyển nhiễm bằng các xytokin như interleukin 2, interleukin 4 hoặc yếu tố kích thích khuẩn lạc đại thực bào-bạch cầu hạt, các phương pháp giảm chứng mất ứng tế bào T, các phương thức sử dụng các tế bào miễn dịch được chuyển nhiễm như các tế bào sợi nhánh được chuyển nhiễm xytokin, các phương thức sử dụng các dòng tế bào khối u được chuyển nhiễm xytokin và các phương pháp sử dụng các kháng thể kháng-idiotyp.

Các chất tiền chết tế bào theo chương trình: Các chất được sử dụng trong các phác đồ tiền chết tế bào theo chương trình (ví dụ, các oligonucleotit đối nghĩa bcl-2) có thể cũng được sử dụng trong hỗn hợp theo sáng chế.

Các chất ức chế tín hiệu chu trình tế bào: Các chất ức chế tín hiệu chu trình tế bào ức chế các phân tử liên quan đến điều khiển chu trình tế bào. Họ các protein kinaza được gọi là các kinaza phụ thuộc cyclin (cyclin dependent kinaza-CDK) và sự tương tác của chúng với họ các protein được gọi là tiến trình điều khiển cyclin thông qua chu trình tế bào nhân điển hình. Hoạt tính kết hợp và bất hoạt các phức hệ cyclin/CDK khác nhau là cần thiết cho tiến trình bình thường thông qua chu trình tế bào. Một vài chất ức chế tín hiệu chu trình tế bào đang được phát triển. Ví dụ, các ví dụ về các kinaza phụ thuộc cyclin bao gồm CDK2, CDK4, và CDK6 và các chất ức chế tương tự được mô tả trong, ví dụ, Rosania *et al.*, Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(2):215-230.

Theo một phương án, hỗn hợp theo sáng chế chứa hợp chất có công thức I hoặc muối hoặc solvat của nó và ít nhất một chất chống khối u được chọn từ các chất chống vi cấu trúc hình ống, các phức hệ kết hợp platin, các chất alkyl hóa, các chất kháng sinh, các chất ức chế topoisomeraza II, các chất chống chuyển hóa, các chất ức chế topoisomeraza I, các hormon và các chất tương tự hormon, các chất ức chế con đường truyền tín hiệu, các chất ức chế sự hình thành mạch MEK tyrosin không thụ thể, các chất trị liệu miễn dịch, các chất tiền gây chết tế bào theo chương trình, và các chất ức chế truyền tín hiệu chu trình tế bào.

Theo một phương án, hỗn hợp theo sáng chế chứa hợp chất có công thức I hoặc muối hoặc solvat của nó và ít nhất một chất chống khối u là chất chống vi cấu trúc hình ống được chọn từ diterpenoit và vinca alkaloit.

Theo khía cạnh nữa, ít nhất một chất chống khối u là diterpenoit.

Theo khía cạnh nữa, ít nhất một chất chống khối u là vinca alkaloit.

Theo một phương án, hỗn hợp theo sáng chế chứa hợp chất có công thức I hoặc muối hoặc solvat của nó và ít nhất một chất chống khối u, là phức hệ kết hợp platin.

Theo khía cạnh nữa, ít nhất một chất chống khối u là paclitaxel, carboplatin, hoặc vinorelbin.

Theo khía cạnh nữa, ít nhất một chất chống khối u là carboplatin.

Theo khía cạnh nữa, ít nhất một chất chống khối u là vinorelbin.

Theo khía cạnh nữa, ít nhất một chất chống khối u là paclitaxel.

Theo một phương án, hỗn hợp theo sáng chế chứa hợp chất có công thức I và muối hoặc các solvat của nó và ít nhất một chất chống khối u là chất ức chế con đường truyền tín hiệu.

Theo khía cạnh nữa chất ức chế con đường truyền tín hiệu là chất ức chế thụ thể yếu tố tăng trưởng kinaza VEGFR2, TIE2, PDGFR, BTK, erbB2, EGFr, IGFR-1, TrkA, TrkB, TrkC, hoặc c-fms.

Theo khía cạnh nữa chất ức chế con đường truyền tín hiệu là chất ức chế serin/threonin kinaza rafk, akt, hoặc PKC-zeta.

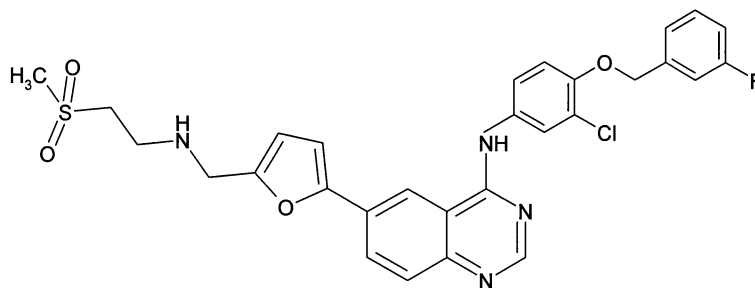
Theo khía cạnh nữa chất ức chế con đường truyền tín hiệu là chất ức chế tyrosin không thụ thể kinaza được chọn từ họ src kinaza.

Theo khía cạnh nữa chất ức chế con đường truyền tín hiệu là chất ức chế c-src.

Theo khía cạnh nữa chất ức chế con đường truyền tín hiệu là chất ức chế gen gây ung thư Ras được chọn từ các chất ức chế farnesyl transferaza và geranylgeranyl transferaza.

Theo khía cạnh nữa chất ức chế con đường truyền tín hiệu là chất ức chế serin/threonin kinaza được chọn từ nhóm gồm PI3K.

Theo khía cạnh nữa chất ức chế con đường truyền tín hiệu chất ức chế kép EGFr/erbB2, ví dụ N-{3-clo-4-[(3-flobenzyl) oxy]phenyl}-6-[5-({[2-(metansulphonyl) etyl]amin}metyl)-2-furyl]-4-quinazolinamin (cấu trúc dưới đây):



Theo một phương án, hỗn hợp theo sáng chế chứa hợp chất có công thức I hoặc muối hoặc solvat của nó và ít nhất một chất chống khối u là chất ức chế tín hiệu chu trình tế bào.

Theo khía cạnh nữa, chất ức chế tín hiệu chu trình tế bào là chất ức chế CDK2, CDK4 hoặc CDK6.

Theo một phương án động vật có vú trong các phương pháp và sử dụng theo sáng chế là người.

Thích hợp là, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc làm thuyên giảm độ trầm trọng của bệnh ung thư do một trong số Raf, Ras, MEK, và PI3K/PTEN có kiểu đại hoặc dạng đột biến. Sáng chế bao hàm nhưng không bị giới hạn đến người bệnh bị bệnh ung thư do RAF dạng đột biến, RAS kiểu đại, MEK kiểu đại, và PI3K/PTEN kiểu đại; RAF dạng đột biến, RAS dạng đột biến, MEK kiểu đại, và PI3K/PTEN kiểu đại; RAF dạng đột biến, RAS dạng đột biến, MEK kiểu đại, và

PI3K/PTEN kiểu đại; và RAF dạng đột biến, RAS kiểu đại, MEK dạng đột biến, và PI3K/PTEN kiểu đại.

Thuật ngữ “kiểu đại” như được hiểu trong ngành đề cập đến polypeptit hoặc chuỗi polynucleotit có trong quần thể tự nhiên không có cải biến di truyền. Như cũng được hiểu trong ngành, "dạng đột biến" bao gồm polypeptit hoặc chuỗi polynucleotit có ít nhất một sự cải biến axit amin hoặc axit khi so sánh với axit amin hoặc axit nucleic tương ứng được tìm thấy trong polypeptit hoặc polynucleotit kiểu đại tương ứng. Được bao gồm trong thuật ngữ dạng đột biến là hiện tượng đa hình nucleotit đơn (Single Nucleotide Polymorphism-SNP) trong đó sự khác biệt một cặp bazơ tồn tại trong trình tự của sợi axit nucleic khi so với sợi axit nucleic được tìm thấy nhiều nhất trong tự nhiên (kiểu đại).

Các bệnh ung thư do Raf, Ras, MEK kiểu đại hoặc dạng đột biến, hoặc do PI3K/Pten kiểu đại được xác định bằng các phương pháp đã biết. Ví dụ, các tế bào khối u kiểu đại hoặc đột biến có thể được xác định bằng sự khuếch đại ADN và công nghệ xác định trình tự, các kỹ thuật phát hiện ADN và ARN, bao gồm, nhưng không giới hạn đến tương ứng là thấm tách Northern và Southern, và/hoặc các kỹ thuật chip sinh học khác nhau và dây. Các polypeptit kiểu đại và đột biến có thể được phát hiện bằng nhiều kỹ thuật khác nhau bao gồm, nhưng không giới hạn đến các kỹ thuật chẩn đoán miễn dịch như ELISA, Western blot hoặc hóa học miễn dịch tế bào. Thích hợp là, phương pháp polyme hóa hoạt hóa phân giải pyrophosphat (Pyrophosphorolysis-activated polymerization-PAP) và/hoặc PCR có thể được sử dụng. Liu, Q *et al.*; Human Mutation 23:426-436 (2004).

Các ví dụ sau chỉ nhằm để minh họa và không nhằm làm giới hạn phạm vi của sáng chế theo bất kỳ cách nào.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1 - Chế phẩm viên nang

Dạng phân liều qua đường miệng để dùng hỗn hợp theo sáng chế được sản xuất bằng cách đóng vào viên nang gelatin cứng hai mảnh đạt tiêu chuẩn các thành phần với tỷ lệ được thể hiện trong Bảng A, dưới đây.

Bảng A

Thành phần	Khối lượng
N-{3-[3-cyclopropyl-5-(2-fluoro-4-iodophenylamino)-6,8-dimethyl-2,4,7-trioxo-3,4,6,7-tetrahydro-2H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-1-yl]phenyl}acetamide hydrochloride (Hợp chất A)	5mg
N-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimethylethyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-fluorophenyl}-2,6-difluorobenzenesulfonamide metanesulfonate (muối metanesulfonate của hợp chất B)	100mg
Manitol	250mg
Bột talc	125mg
Magiê Stearat	8mg

Trong khi các phương án ưu tiên của sáng chế được minh họa trên đây, được hiểu rằng sáng chế không bị giới hạn đến các hướng dẫn rõ ràng này được bộc lộ ở đây và quyền đối với tất cả các thay đổi trong phạm vi của các yêu cầu bảo hộ sau.

Các thử nghiệm

Nghiên cứu hỗn hợp *in vitro* gồm các chất ức chế BRAF và MEK trên các dòng tế bào ung thư đa nguồn gốc mã hóa các đột biến khác nhau

A. Các giới hạn nồng độ A

Các thí nghiệm hỗn hợp được thực hiện trong các đĩa 384-giếng. Các tế bào được đặt trong các đĩa 384 giếng với 500 tế bào/giếng trong môi trường nuôi cấy thích hợp cho mỗi loại tế bào, được bổ sung 10% FBS và 1% penicillin/streptomycin, và ủ qua đêm ở 37°C, 5% CO₂. Mười sáu nồng độ với độ pha

loãng 2 lần mỗi được chất được thử nghiệm trong chất nền để ức chế sự sinh trưởng tế bào. Các nồng độ được thử nghiệm hợp chất A (dạng tự do) là nằm trong khoảng từ $1\mu\text{M}$ - 0,03 nM và hợp chất B (DMSO solvat) là nằm trong khoảng từ $10\mu\text{M}$ – 0,3nM. Các tế bào được xử lý bằng hỗn hợp hợp chất và được ủ ở 37°C trong 72 giờ. Sự sinh trưởng tế bào được đo sử dụng chất phản ứng CellTiter-Glo® theo quy trình của nhà sản xuất và các tín hiệu được đọc trên bộ máy đọc PerkinElmer EnVision™ cho phương thức phát quang với số đọc 0,5 giây. Các kết quả được biểu diễn là phần trăm ức chế được so sánh với các tế bào được xử lý DMSO và sự hiệu chỉnh nền được đưa ra bằng cách trừ đi các giá trị từ các giếng không chứa tế bào.

Đáp ứng (phần trăm ức chế so sánh với các mẫu không được xử lý và được tiêu chuẩn hóa đến chỉ mình môi trường) hợp chất “A” ở nồng độ “a” (R_a) và đáp ứng của hợp chất “B” ở nồng độ “b” (R_b) được so sánh với đáp ứng của hỗn hợp gồm các hợp chất “A” và “B” tương ứng ở nồng độ “a” và “b” (R_{ab}). Sử dụng các giá trị này, giá trị về hiệu quả của hỗn hợp cao hơn hẳn so với hiệu quả của từng thành phần đơn chất (Excess Over Highest Single Agent-EOHSA) được tính toán cho mỗi nồng độ của mỗi dòng tế bào được thử nghiệm:

$R_{ab} > 10\%$ giá trị cao hơn trong số R_a và R_b = cao hơn cộng hợp

$R_{ab} < -10\%$ nồng độ cao hơn trong số R_a và R_b = đối kháng

Sử dụng công thức này, nếu R_{ab} là lớn hơn 10% hoặc cao hơn giá trị cao nhất giữa R_a và R_b , hỗn hợp được chất được xem là cao hơn cộng hợp. Nếu R_{ab} nhỏ hơn 10% hoặc cao hơn giá trị cao nhất giữa R_a và R_b hỗn hợp được chất là đối kháng.

Cho mỗi dòng tế bào được kiểm nghiệm, số các nồng độ trong ma trận 16×16 với đáp ứng cao hơn cộng hợp (các nồng độ trong đó R_{ab} là cao hơn 10% so với giá trị cao hơn trong số R_a và R_b) được liệt kê. Số các hỗn hợp cao hơn cộng hợp (trong số 264 hỗn hợp được thử nghiệm) được tóm tắt trong bảng 1. Trong bảng này, các hỗn hợp nồng độ trên dòng tế bào xác định được nhận thấy là đặc biệt hữu ích (ô màu xám) nếu cao hơn 20% (51 hỗn hợp trong số 256 thử nghiệm) trong số các hỗn hợp được thử nghiệm thể hiện $>10\%$ EOHSA.

Bảng 1: Hiệu quả hỗn hợp gồm các chất ức chế MEK và BRAF trên nhiều dòng tế bào ung thư

Nguồn gốc	Dòng tế bào	MAPK	PI3K/PTEN	Số thứ tự hỗn hợp chất w EOHSA (264 hỗn hợp được đánh giá)	%
Da	A375P	BRAF ^{V600E}	WT/WT	34	13
Ruột kết	RKO	BRAF ^{V600E}	mut/WT	111	43
Da	A101D	BRAF ^{V600E}	WT/mut	26	10
Da	SK-MEL-5	BRAF ^{V600E} NRAS ^{G12V}	WT/inc	40	16
Phổi	A-549	KRAS ^{G12S}	WT/WT	49	19
Ruột kết	LoVo	KRAS ^{G13D}	WT/WT	71	28
Ruột kết	HCT116	KRAS ^{G13D}	mut/WT	57	22
Da	SK-MEL-2	NRAS ^{Q61R}	WT/WT	75	29
Phổi	H1299	NRAS ^{Q61R}	WT/WT	62	24
U liên kết ác tính	HT-1080	NRAS ^{Q61K}	WT/WT	72	28
Vú	MDA-MB-231	NRAS ^{Q61K}	WT/WT	74	29

Dữ liệu này chứng minh rằng hỗn hợp gồm hợp chất A và hợp chất B ở trên là có lợi trên nhiều dòng tế bào ung thư đa nguồn gốc độc lập về tình trạng đột biến các gen gây ung thư then chốt trong MAPK hoặc các con đường AKT/PI3K/PTEN.

B. Các giới hạn nồng độ B

Đánh giá tương tự như phần A trên đây hỗn hợp gồm hợp chất A và hợp chất B được thực hiện sử dụng dữ liệu được tạo ra trong phần A, nhưng chỉ cho các nồng độ được chất mà dường như là thích hợp về mặt lâm sàng (100nM-3nM). Các nồng độ này được chọn là các nồng độ mà có xu hướng là có hiệu quả nhưng không độc trong các mô hình ghép khác loại chuột tiền lâm sàng. Sử dụng các nồng độ này, tổng gồm 25 hỗn hợp được chất được đánh giá cho mỗi dòng tế bào, và các kết quả được tóm tắt trong bảng 2.

Số các hỗn hợp có Rab > 10% giá trị cao hơn trong số Ra và Rb trong số 25 hỗn hợp thích hợp về mặt lâm sàng thử nghiệm được tính toán và được biểu diễn là phần trăm trong bảng 2.

Bảng 2: Hỗn hợp *in vitro* các chất ức chế MEK và BRAF sử dụng các nồng độ được chất thích hợp về mặt lâm sàng

Nguồn gốc	Các dòng tế bào	MAPK	PI3K/PTEN	Số thứ tự hỗn hợp được chất w EOHSA ở nồng độ lâm sàng được thiết lập (25 hỗn hợp được đánh giá)	%
Da	A375P	BRAF ^{V600E}	WT/WT	16	64
Ruột kết	RKO	BRAF ^{V600E}	mut/WT	23	92
Da	A101D	BRAF ^{V600E}	WT/mut	17	68
Da	SK-MEL-5	BRAF ^{V600E} NRAS ^{G12V}	WT/inc	21	84
Phổi	A-549	KRAS ^{G12S}	WT/WT	17	68
Ruột kết	LoVo	KRAS ^{G13D}	WT/WT	6	24

Ruột kết	HCT116	KRAS ^{G13D}	mut/WT	7	28
Da	SK-MEL-2	NRAS ^{Q61R}	WT/WT	1	4
Phổi	H1299	NRAS ^{Q61R}	WT/WT	8	32
U liên kết	HT-1080	NRAS ^{Q61K}	WT/WT	3	12
Vú	MDA-MB-231	NRAS ^{Q61K}	WT/WT	5	20

Dữ liệu này chứng minh rằng hỗn hợp gồm hợp chất A và hợp chất B là thích hợp trong hầu hết các dòng tế bào được thử nghiệm ở các nồng độ được chất lâm sàng thích hợp và thích hợp cao trên tất cả các dòng tế bào đột biến BRAF^{V600E} và KRAS được thử nghiệm, độc lập về tình trạng đột biến con đường PI3K/PTEN.

Ức chế sinh trưởng tế bào in vitro trong các dòng tế bào khối u

Phương pháp:

Các dòng tế bào và các điều kiện sinh trưởng – Các dòng khối u ruột kết người, Colo-205, DLD-1, HCT-8, HT-29, LS-1034, NCI-H508, RKO, SW1417, SW1463, SW480 và SW837, và dòng u hắc sắc tố người A375 từ ATCC. A375PF11 được bắt nguồn từ A375. 12R5-1, 12R5-3, 12R8-1, 12R8-3, 16R5-2, 16R6-3 và 16R6-4 là các dòng đơn tính tế bào đơn có nguồn gốc từ quần thể hỗn hợp các tế bào A375PF11 được chọn để sinh trưởng trong hợp chất A đến nồng độ 1200 và 1600nM, nhờ đó thể hiện sự kháng lại thu được đối với hợp chất B. Tất cả các dòng được nuôi cấy trong môi trường RPMI 1640 chứa 10% huyết thanh thai bò (fetal bovine serum-FBS).

Thử nghiệm ức chế sinh trưởng tế bào và phân tích dữ liệu hỗn hợp – Tất cả các tế bào được nuôi cấy trong tối thiểu 72 giờ trước khi nuôi cấy trên đĩa tế bào. Các tế bào được thử nghiệm trong đĩa nuôi cấy mô 96 giếng (NUNC 136102) chứa môi trường RPMI chứa 10% FBS cho tất cả các tế bào với 1.000 tế bào cho mỗi giếng. Khoảng 24 giờ sau khi nuôi cấy trên đĩa, các tế bào được tiếp xúc với các độ pha loãng

liên tiếp mười lần, ba lần hợp chất hoặc hỗn hợp hai chất này với tỷ lệ mol cố định là 1:10 hợp chất A (DMSO solvat) với hợp chất B (dạng tự do) trong môi trường RPMI chứa 10% FBS. Các nồng độ thử nghiệm cho hợp chất A là 1 μ M – 0,05nM và cho hợp chất B là 10 μ M – 0,5nM. Các tế bào được ủ trong sự có mặt của các hợp chất trong 3 ngày. Các mức ATP được xác định bằng cách bổ sung Cell Titer Glo® (Promega) theo quy trình của nhà sản xuất. Một cách ngắn gọn, Cell Titer Glo® được bổ sung vào mỗi đĩa, ủ trong 30 phút sau đó đọc tín hiệu phát quang trên máy đọc đĩa SpectraMax L với thời gian tích hợp 0,5 giây.

Sự ức chế sinh trưởng tế bào được ước lượng sau khi xử lý bằng hợp chất hoặc hỗn hợp hợp chất trong ba ngày và so sánh tín hiệu này với các tế bào được xử lý bằng chất dẫn (DMSO). Sự sinh trưởng tế bào được tính toán tương ứng với với các giếng đối chứng được xử lý (DMSO). Nồng độ hợp chất ức chế 50% sinh trưởng tế bào đối chứng (IC₅₀) được nội suy khi y=50% đối chứng chất dẫn sử dụng sự hồi quy không tuyến tính bằng phương trình, $y=(A+(B-A)/(1+(C/x)^D))$, trong đó A là đáp ứng tối thiểu (y_{min}), B là đáp ứng tối đa (y_{max}), C là điểm uốn của đường cong (EC₅₀) và D là hệ số Hill.

Các hiệu quả của hỗn hợp về hiệu lực được đánh giá sử dụng chỉ số kết hợp (Combination Index-CI) mà được tính toán bằng các giá trị IC₅₀ được nội suy sau và phương trình không loại trừ lẫn nhau được bắt nguồn bằng Chou và Talalay (1):

$$CI = Da/IC_{50}(a) + Db/IC_{50}(b) + (Da \times Db)/(IC_{50}(a) \times IC_{50}(b))$$

trong đó IC₅₀(a) là IC₅₀ của hợp chất A; IC₅₀(b) là IC₅₀ cho hợp chất B; Da là nồng độ của hợp chất A kết hợp với hợp chất B mà ức chế 50% sinh trưởng tế bào; và Db là nồng độ của hợp chất B kết hợp với hợp chất A mà ức chế 50% sinh trưởng tế bào. Nhìn chung, giá trị CI <0,9, nằm trong khoảng từ 0,9 đến 1,1, hoặc >1,1 tương ứng chỉ định sự hiệp đồng, cộng hợp và đối kháng. Nhìn chung, số CI càng nhỏ, cường độ hiệp đồng càng lớn.

Các hiệu quả của hỗn hợp về phạm vi đáp ứng được đánh giá bằng giá trị về hiệu quả của hỗn hợp cao hơn hẳn so với hiệu quả của từng thành phần đơn chất (EOHSA) dựa trên định nghĩa về sự pha trộn không tuyến tính như được mô tả chi tiết bởi Peterson và Novick (2007) và Peterson (2010) [(2;3) [Peterson và Novick, 2007; Peterson, 2010]. Các giá trị EOHSA được định nghĩa là sự gia tăng cải thiện (ở đây, là

sự khác biệt ‘các điểm phần trăm’ (percentage points-ppts) được tạo ra bởi hỗn hợp này hơn hẳn đơn chất tốt nhất ở mức liều thành phần của nó cho hỗn hợp này. Đối với cách điều trị bằng đơn chất và hỗn hợp, các tế bào được tiếp xúc với các hợp chất theo tỷ lệ liều cố định, và các đường cong đáp ứng liều được điều chỉnh vừa với dữ liệu thí nghiệm và được phân tích sử dụng các mô hình hồi quy. Ở các mức IC_{50} liều dùng tổng số đặc hiệu dọc theo đường cong đáp ứng liều, hỗn hợp liều dùng (tương ứng với IC_{50}) được xác định để tạo nên các kết luận thống kê EOHSA. Cụ thể hơn, cho thí nghiệm được chất kết hợp bao gồm được chất 1 với liều dùng d1 và được chất 2 với liều dùng d2, (nghĩa là, liều dùng tổng số tương đương d1+d2) được nói là có EOHSA dương nếu đáp ứng trung bình khi kết hợp là tốt hơn đáp ứng trung bình cho được chất 1 với liều dùng d1 hoặc được chất 2 cho liều dùng d2.

Các kết quả:

Hiệu quả ức chế sinh trưởng tế bào bằng chất ức chế MEK hợp chất A, chất ức chế BRAF hợp chất B và hỗn hợp của nó được xác định trong bảng các dòng tế bào khối u người. Các IC_{50} trung bình (từ ít nhất hai thí nghiệm độc lập) và các hiệu quả của hỗn hợp ở IC_{50} được tóm tắt trong bảng 3 có tình trạng đột biến BRAF và KRAS.

Liên quan đến bảng 3, bốn dòng tế bào ruột kết có đột biến BRAF V600E thể hiện sự nhạy cảm đối với hợp chất A với các giá trị IC_{50} nằm trong khoảng từ 0,001 μ M đến 0,025 μ M, và đối với hợp chất B với các giá trị IC_{50} nằm trong khoảng từ 0,018 μ M đến 5,654 μ M. Hỗn hợp gồm hợp chất A và hợp chất B là hiệp đồng với các giá trị CI nằm trong khoảng từ 0,25 đến 0,73 và/hoặc ức chế sự sinh trưởng tế bào gia tăng với các giá trị EOHSA nằm trong khoảng từ 7 đến 26 ppt trong bốn dòng tế bào này có đột biến BRAF V600E. Bảy dòng tế bào ruột kết không có đột biến BRAF V600E (có đột biến BRAF G596R hoặc KRAS) là nhạy với hợp chất B ($IC_{50} > 10 \mu$ M), tuy nhiên độ nhạy cao với sự ức chế sinh trưởng tế bào bởi hợp chất A với các IC_{50} nằm trong khoảng từ 0,001 đến 0,093 μ M trong sáu trong số bảy dòng tế bào. Hỗn hợp gồm hợp chất A và hợp chất B thể hiện sự ức chế sinh trưởng tế bào gia tăng trong dòng khối u ruột kết DLD1, và sự ức chế sinh trưởng tế bào tối thiểu không có lợi ích cộng hợp hơn hẳn so với điều trị bằng chỉ mình hợp chất A trong sáu dòng tế bào ruột kết còn lại.

Đối với các dòng u hắc sắc tố được liệt kê trong bảng 3, các tế bào A375PF11 có đột biến BRAF V600E là nhạy cao với đơn chất hợp chất A ($IC_{50} = 0,001\mu M$) hoặc hợp chất B ($IC_{50} = 0,012\mu M$). Hỗn hợp gồm hợp chất A và hợp chất B là hiệp đồng với giá trị CI là 0,3 trong các tế bào A375PF11. Các dòng u hắc sắc tố 12R8-3, 12R8-1, 12R5-3, và 16R6-3 là kháng lại hợp chất B ($IC_{50} > 10\mu M$), nhạy cảm vừa phải với hợp chất A với IC_{50} nằm trong khoảng từ $0,058\mu M$ đến $0,109$, và đáp ứng với hỗn hợp gồm hợp chất công thức A và hợp chất B với IC_{50} nằm trong khoảng từ $0,018$ đến $0,023\mu M$ cho hợp chất A và từ $0,178$ - $0,234\mu M$ cho hợp chất B. Các dòng u hắc sắc tố 16R5-2, 16R6-4 và 12R5-1 là kháng lại hoặc nhạy cảm với chỉ mình hợp chất A hoặc hợp chất B, tuy nhiên trở nên nhạy cảm với hỗn hợp gồm hợp chất A và hợp chất B với IC_{50} nằm trong khoảng từ $0,018$ đến $0,039\mu M$ cho hợp chất A và nằm trong khoảng từ $0,177$ - $0,386\mu M$ cho hợp chất B. Hỗn hợp gồm hợp chất A và hợp chất B cũng cho thấy sự gia tăng ức chế sinh trưởng tế bào trong tất cả các dòng u hắc sắc tố này. Lưu ý rằng, các giá trị CI có thể không được tính toán do đó không thể áp dụng khi các giá trị đơn chất là nằm ngoài giới hạn được thử nghiệm.

Đáng quan tâm là, dùng kết hợp hợp chất A và hợp chất B trong các dòng tế bào ruột kết đột biến BRAF-V600E và u hắc sắc tố cho thấy hiệu quả hiệp đồng được chứng minh bởi các giá trị $CI < 0,9$, hoặc dẫn đến giá trị IC_{50} giảm khi so sánh với dùng chỉ mình hợp chất A hoặc hợp chất B, trong đó ít nhất một trong số các đơn chất đã không thu được sự ức chế 50% trong giới hạn thử nghiệm.

Bảng 3. Ước chế sự sinh trưởng tế bào bởi hợp chất A, hợp chất B và hỗn hợp của chúng trong các dòng tế bào khối u người

Các dòng tế bào khối u		Tình trạng đột biến	Các giá trị IC50 theo micromol (giá trị trung bình ±std)				Các hiệu quả hỗn hợp ở IC50	
			Đơn chất		Hỗn hợp hợp chất A hoặc B tỷ lệ mol = 1:10			
			KRAS/BRAF	Hợp chất A	Hợp chất B	Hợp chất A	Hợp chất B	CI
Ruột kết	Colo-205	BRAF_V600E	0,001 ± 0,000	0,018 ± 0,013	0,0005 ± 0,0002	0,005 ± 0,002	0,69 ± 0,10	26 ± 10,6
	HT-29	BRAF_V600E	0,001 ± 0,001	0,022 ± 0,022	0,0004 ± 0,0003	0,004 ± 0,003	0,73 ± 0,11	15 ± 4,3
	SW1417	BRAF_V600E	0,003 ± 0,002	0,203 ± 0,015	0,001 ± 0,0003	0,014 ± 0,003	0,69 ± 0,44	7 ± 8,1
	RKO	BRAF_V600E	0,025 ± 0,007	5,654 ± 3,900	0,006 ± 0,001	0,057 ± 0,015	0,25 ± 0,01	18 ± 2,7
	DLD1	KRAS_G13D	0,557 ± 0,393	>10	0,044 ± 0,003	0,443 ± 0,030	N/A	22 ± 2,3
	HCT-8	KRAS_G13D	0,050 ± 0,011	>10	0,035 ± 0,013	0,348 ± 0,132	N/A	7 ± 2,9
	SW480	KRAS_G12C	0,042 ± 0,003	>10	0,024 ± 0,003	0,235 ± 0,034	N/A	5 ± 0,7
	NCI-H508	BRAF_G596R	0,010 ± 0,005	>10	0,008 ± 0,005	0,081 ± 0,054	N/A	4 ± 4,1
	SW837	KRAS_G12C	0,093 ± 0,063	>10	0,087 ± 0,037	0,874 ± 0,368	N/A	0 ± 2,8
	LS-1034	KRAS_A146T	0,011 ± 0,007	>10	0,029 ± 0,022	0,295 ± 0,221	N/A	-21 ± 2,7
SW1463	KRAS_G12C	0,005 ± 0,004	>10	0,021 ± 0,013	0,210 ± 0,133	N/A	-26 ± 4,2	
U hắc sắc tố	A375PF11	BRAF_V600E	0,001 ± 0,001	0,012 ± 0,012	0,0002 ± 0,000	0,002 ± 0,003	0,30 ± 0,32	18 ± 3,0
	12R8-1	BRAF_V600E	0,058 ± 0,030	>10	0,019 ± 0,017	0,186 ± 0,173	N/A	22 ± 0,2
	12R8-3	BRAF_V600E	0,059 ± 0,037	>10	0,018 ± 0,018	0,178 ± 0,182	N/A	27 ± 0,7
	12R5-3	BRAF_V600E	0,092 ± 0,052	>10	0,021 ± 0,015	0,210 ± 0,153	N/A	30 ± 5,8
	16R6-3	BRAF_V600E	0,109 ± 0,022	>10	0,023 ± 0,021	0,234 ± 0,210	N/A	29 ± 6,8
	16R5-2	BRAF_V600E	>1	>10	0,018 ± 0,013	0,177 ± 0,128	N/A	35 ± 2,1
	16R6-4	BRAF_V600E	>1	>10	0,021 ± 0,013	0,215 ± 0,135	N/A	44 ± 12,4
	12R5-1	BRAF_V600E	>1	>10	0,039 ± 0,021	0,386 ± 0,211	N/A	61 ± 14,9

Trong đó

IC₅₀: nồng độ hợp chất là đơn chất, hoặc nồng độ hợp chất A hoặc B trong hỗn hợp khi hợp chất A và hợp chất B có tỷ lệ mol = 1:10 làm giảm sự sinh trưởng tế bào 50%;

CI; Chỉ số kết hợp; N/A = không thể áp dụng

EOHSA: (Excess over Highest Single Agent) giá trị về hiệu quả của hỗn hợp cao hơn hẳn so với hiệu quả của từng thành phần đơn chất, được đo là phần trăm.

Danh sách tài liệu tham khảo

- (1) Chou TC, Talalay P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. Adv Enzyme Regul 1984;22:27-55.
- (2) Peterson JJ, Novick SJ. Nonlinear blending: a useful general concept for the assessment of combination drug synergy. J Recept Signal Transduct Res 2007;27(2-3):125-46.

- (3) Peterson J. A Review of Synergy Concepts of Nonlinear Blending và Dose-Reduction Profiles. *Frontiers of Bioscience* S2, 483-503. 2010.

Mô hình chuột ghép ngoại lai A

Các mô hình ghép ngoại lai sử dụng các tế bào A375P F11 (dòng tế bào u hắc sắc tố người mã hóa đột biến BRaf^{V600E}) được thiết lập từ các tế bào sinh trưởng trong nuôi cấy mô và được thu hồi vô trùng sử dụng sự đồng hóa trypsin. Các tế bào khối u được tiêm dưới da vào trong chuột cái thiếu tuyến ức (chủng *nu/nu*) với lượng nằm trong khoảng từ 5×10^6 đến 10^7 tế bào trong 50% matrigel. Cho phép tạo ra các khối u. Liều dùng bắt đầu vào ngày 24 sau khi cấy dưới da, tương ứng với thể tích khối u trung bình là $\sim 200 \text{ mm}^3$.

Mô hình khối u ghép ngoại lai người sử dụng 4 nhóm chuột, với 8 con chuột cho mỗi nhóm. Các con chuột này được xác định thông qua vi chip dưới da hoặc các hình xăm.

Nhóm thứ nhất gồm các con vật đối chứng mang khối u được xử lý giả dược hoặc không được xử lý. Nhóm thứ hai được dùng liều đơn mỗi ngày theo đường miệng với *N*-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimethylethyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamid (dạng tinh thể bazơ tự do) (Hợp chất B). Nhóm thứ ba được dùng liều đơn mỗi ngày theo đường miệng với *N*-{3-[3-cyclopropyl-5-(2-flo-4-iodo-phenylamino)6,8-dimethyl-2,4,7-trioxo-3,4,6,7-tetrahydro-2H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-1-yl]phenyl}axetamid dimethyl sulfoxit solvat (hợp chất A). Nhóm thứ tư được dùng liều đơn mỗi ngày theo đường miệng bằng hỗn hợp chứa *N*-{3-[5-(2-amino-4-pyrimidinyl)-2-(1,1-dimethylethyl)-1,3-thiazol-4-yl]-2-flophenyl}-2,6-diflobenzensulfonamid (dạng tinh thể bazơ tự do) và *N*-{3-[3-cyclopropyl-5-(2-flo-4-iodo-phenylamino)6,8-dimethyl-2,4,7-trioxo-3,4,6,7-tetrahydro-2H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-1-yl]phenyl}axetamid dimethyl sulfoxit solvat. Mỗi dược chất được cung cấp trong huyền phù chứa 0,5% HPMC/0,2% TWEEN 80.

Các kích thước khối u được đo hai lần một tuần sử dụng compa đo giềng Vernier. Thể tích khối u được tính toán từ các phép đo hai chiều sử dụng phương trình tính xấp xỉ thể tích của khối hình bầu dục mở rộng:

$$\text{Thể tích khối u theo mm lập phương} = (\text{chiều dài} \times \text{chiều rộng}^2) \times 0,5$$

Các phép đo này được thông báo trong Fig. 1 sau khi điều trị 36 ngày. Dữ liệu này cho thấy rằng hỗn hợp gồm các chất ức chế MEK và B-Raf là hiệu quả khi so sánh với mỗi được chất được dùng riêng biệt.

Mô hình chuột ghép ngoại lai B

Các tế bào A375P được thu hồi từ các đĩa nuôi cấy bằng cách tiếp xúc với 0,25% trypsin/EDTA trong 5 phút ở 37°C. Các tế bào đã tách ra được thu lại, ly tâm (1500 vòng/phút, 5 phút, 4°C) và rửa để loại bỏ dung dịch trypsin. Các tế bào được tái tạo huyền phù trong PBS không có magiê hoặc canxi và đếm. Các tế bào được rửa trước đó để loại bỏ PBS và huyền phù đơn bào được tạo nên trong 50% Matrigel: 50% PBS (theo thể tích) hoặc 100% PBS để cho 100µL dung dịch tiêm dưới da sẽ phân phối số tế bào cần thiết cho mỗi con chuột. Dòng u hắc sắc tố A375P được tiêm Matrigel với 1,75 triệu tế bào cho mỗi con chuột dưới da vào trong chuột CD-1 *nu/nu* cái 8-10 tuần tuổi. Thiết lập các khối u (~150-300mm³) cho tất cả các dòng tế bào trong 2-4 tuần sau khi tiêm.

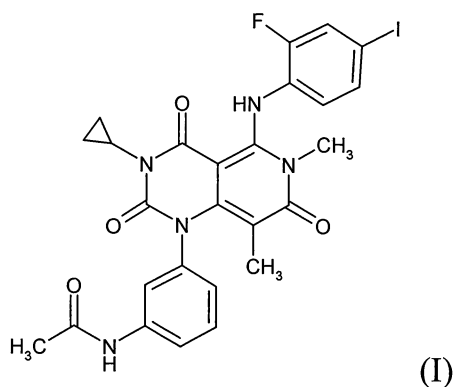
Hợp chất A (DMSO solvat) và hợp chất B (dạng tự do) được dùng theo đường miệng cho chuột với các phân liều chỉ định với 0,2mL/20 gam trọng lượng cơ thể trong 0,5% HPMC (hydroxypropylmetylxenluloza, Sigma cat # H7509) và 0,2% Tween 80 (Sigma cat # P1754) trong nước cất, pH 7,0-8,0.

Chuột có khối u kích thước tương tự (150 – 200mm³) được xác định. Chiều dài và chiều rộng của các khối u được đo bằng compa giữ bằng tay và các trọng lượng cơ thể chuột được đo sử dụng thước đo tỷ lệ trọng lượng bench top. Theo đó, chuột được đưa vào các nhóm gồm tám hoặc bảy con và được dùng liều theo đường miệng với chất dẫn, từng hợp chất riêng rẽ hoặc hỗn hợp hợp chất. Đo trọng lượng các con chuột và đo các khối u hai lần một tuần trong suốt khoảng thời gian nghiên cứu. Dữ liệu được trình bày trong Fig. 2 chứng minh rằng hỗn hợp gồm hợp chất A (0,1mg/kg) và hợp chất B (30mg/kg) dùng hằng ngày trong 33 ngày (từ ngày 24 đến 56 sau khi cấy dưới da) là hiệu quả hơn so với mỗi được chất riêng rẽ.

YÊU CẦU BẢO HỘ

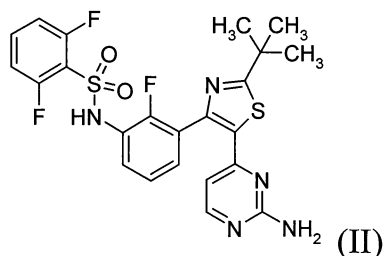
1. Hỗn hợp để điều trị bệnh ung thư chứa:

(i) hợp chất có công thức (I)



hoặc muối được dùng hoặc solvat của nó, trong đó solvat là dimetylsulfoxit solvat; và

(ii) hợp chất có công thức (II)



hoặc muối được dùng của nó.

2. Hỗn hợp theo điểm 1, trong đó hợp chất trong mục (i) là ở dạng dimetylsulfoxit solvat và hợp chất trong mục (ii) là ở dạng muối metansulfonat.

3. Kit hỗn hợp để điều trị bệnh ung thư chứa hỗn hợp theo điểm 1 hoặc 2 cùng với chất mang hoặc các chất mang được dùng.

4. Dược phẩm để điều trị bệnh ung thư chứa hỗn hợp theo điểm 1 hoặc 2 cùng với chất pha loãng hoặc chất mang được dùng.

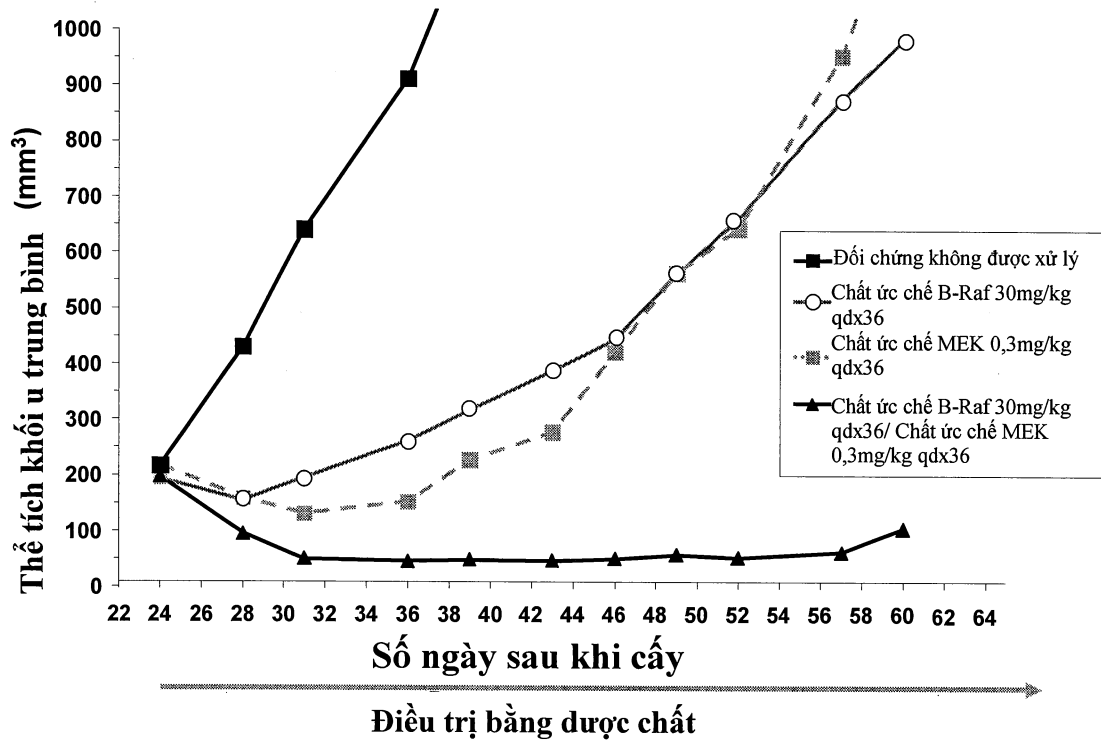


FIG. 1

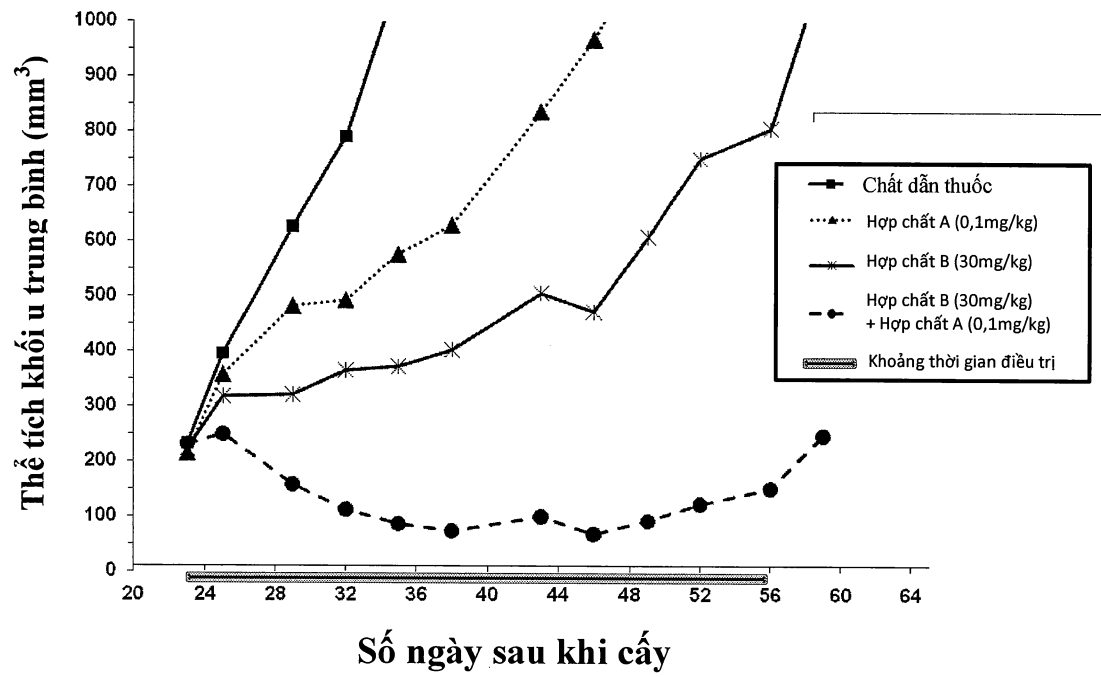


FIG. 2